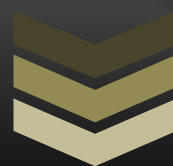


МЕТАБОЛИЗАМ НА ЛЕКОВИ



Даринка Ѓоргиева Ацкова

Емилија Јаневиќ-Ивановска

Даринка Ѓоргиева Ацкова, Емилија Јаневиќ-Ивановска

МЕТАБОЛИЗАМ НА ЛЕКОВИ

Штип, 2018

Даринка Ѓоргиева Ацкова, Емилија Јаневиќ-Ивановска

МЕТАБОЛИЗАМ НА ЛЕКОВИ

Автори:

Доц. д-р Даринка Ѓоргиева Ацкова, Проф. д-р Емилија Јаневиќ-Ивановска

НАСЛОВ НА ПУБЛИКАЦИЈАТА
МЕТАБОЛИЗАМ НА ЛЕКОВИ

Рецензенти:

Проф. д-р Билјана Ѓорѓеска
Проф. д-р Бистра Ангеловска

Лектор:

д-р Васка Ташова

Уредник:

Даринка Ѓоргиева Ацкова

Техничко уредување:

Даринка Ѓоргиева Ацкова

Издавач:

Универзитет „Гоце Делчев“ - Штип

Објавено во е-библиотека:

<https://e-lib.ugd.edu.mk>

CIP - Каталогизација во публикација
Национална и универзитетска библиотека "Св. Климент Охридски", Скопје

615.015(075.8)

ЃОРГИЕВА Ацкова, Даринка
Метаболизам на лекови [Електронски извор] / Даринка Ѓоргиева
Ацкова, Емилија Јаневиќ-Ивановска. - Штип : Универзитет "Гоце Делчев"-
Штип, Факултет за медицински науки, 2018

Начин на пристап (URL): <https://e-lib.ugd.edu.mk/757>. - Текст во PDF

формат, содржи 169 стр., илустр. - Наслов преземен од екранот. - Опис на
изворот на ден 19.10.2018. - Библиографија: стр. 167-169

ISBN 978-608-244-557-1

1. Јаневиќ-Ивановска, Емилија [автор]
а) Метаболизам на лекови - Високошколски учебници
COBISS.MK-ID 108633098

УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“ – ШТИП

ФАКУЛТЕТ ЗА МЕДИЦИНСКИ НАУКИ



Доц. д-р Даринка Ѓоргиева Ацкова, Проф. д-р Емилија Јаневиќ-
Ивановска

МЕТАБОЛИЗАМ НА ЛЕКОВИ

Штип, 2018

ПРЕДГОВОР

Основната наша цел при пишувањето на овој учебник беше да се обидеме да ги претставиме есенцијалните концепти од метаболизмот (биотрансформацијата) на лековите пред сè ставајќи акцент на хемиските и ензимските аспекти, да го илустрираме широкото медицинско значење на овој биолошки процес и да ги посочиме перспективите на тековните истражувања во оваа област.

Водечка идеја низ целиот овој текст е да се демонстрира дека метаболизмот на лековите е од примарна важност почнувајќи од хемискиот дизајн и оптимизацијата на фармацевтската форма па сè до нејзината крајна фармакотерапевтска примена и уште дека при секоја апликација на лек, бројни се факторите кои влијаат на неговиот метаболизам и секако на посакуваниот терапевтски одговор.

СОДРЖИНА

1. ВОВЕД.....	11
2. ПРИНЦИПИ НА МЕТАБОЛИЗАМ НА КСЕНОБИОТИЦИ.....	16
3. ФАЗА I ОД МЕТАБОЛИЗМОТ НА ЛЕКОВИ.....	29
3.1. Хидролиза.....	30
3.1.1. Карбоксилестерази (CE).....	32
3.1.2. Холинестерази (AChE и BChE).....	33
3.1.3. Параоксонази (Лактонази).....	34
3.1.4. Пептидази.....	36
3.1.5. Епоксид хидролази (EH).....	36
3.2. Редукција.....	39
3.2.1. Азо- и нитро-редукција.....	40
3.2.2. Карбонилна редукција.....	41
3.2.3. Редукција на хинони (ензими NQO1 и NQO2).....	42
3.2.4. Карбонил редуктази.....	44
3.2.5. Алдехид оксидаза – Редуктивни реакции.....	44
3.3. Оксидација.....	45
3.3.1. Алкохол дехидрогеназа (ADH) и алдехид дехидрогеназа (ALDH).....	47
3.3.2. Молибден хидроксилази (Молибдозими).....	50
3.3.2.1. Ксантин оксидаза (Xanthine oxidase, XO).....	51
3.3.2.2. Алдехид оксидаза – Оксидациски реакции.....	53
3.3.3. Моноамино оксидази (MAO).....	55
3.3.4. Флавин монооксигенази (FMO).....	58
3.3.5. Цитохром P450.....	60
4. ИНДУКЦИЈА И ИНХИБИЦИЈА НА CYP ЕНЗИМИ. КСЕНОСЕНЗОРИ.....	70
4.1. Инхибиција на CYP ензими.....	70
4.2. Индукција на CYP ензими.....	74
4.3. Ксеносензори.....	78
4.3.1. Арил јаглеводороден рецептор (AhR).....	78
4.3.2. Конститутивен андростански рецептор (CAR), прегнан X рецептор (PXR) и пероксизомски пролифератор-активиран рецептор-алфа (PPARα) – Фамилија на јадрени рецептори 1.....	79

5. ЕНЗИМСКА ИНДУКЦИЈА И ХЕМИСКА КАНЦЕРОГЕНЕЗА.....	81
5.1. Конститутивен андростански рецептор (CAR) и хемиска канцерогенеза. P450 Индуктори: Канцерогени слични на фенотарбетон.....	83
5.2. Пероксизомски пролифератор активирачки рецептор-алфа (PPAR α) и хемиска канцерогенеза.....	84
5.3. Арил јаглевороден рецептор (AhR) и хемиска канцерогенеза.....	85
6. ФАЗА II ОД МЕТАБОЛИЗМОТ НА ЛЕКОВИ – РЕАКЦИИ НА КОНЈУГАЦИЈА..	86
6.1. Вовед.....	86
6.2. Глукуронидација (конјугација со D-глукуронска киселина).....	88
6.2.1. Токсичност на метаболитите конјугати со глукуронска киселина.....	96
6.2.2. Индукација на UGT изоензимите.....	98
6.2.3. Инхибиција на UGT изоензимите.....	98
6.3. Сулфатирање.....	98
6.4. Метилација.....	105
6.5. Ацетилирање.....	113
6.6. Конјугација со аминокиселини.....	117
6.7. Конјугација со глутатион.....	120
7. ФАРМАКОГЕНЕТИКА.....	128
7.1. Видови на генски варијанти – генетска основа на фармакогенетиката.. ..	129
7.2. Расна разновидност.....	132
7.3. Генетски полиморфизми – причини за различни болести.....	132
7.4. Фармакогенетски параметри (особини).....	132
7.5. Функционални испитувања на полиморфизмот.....	134
7.6. Фармакогенетски ефекти врз фармакокинетиката и фармакодинамиката на лекови.....	135
8. МЕМБРАНСКИ ТРАНСПОРТЕРИ (НОСАЧИ) И ОДГОВОР КОН ЛЕКОВИ....	139
8.1. ABC-мембрански транспортери и одговор кон лекови.....	141
8.1.1. ABCB1 транспортери: P-гликопротеин.....	142
8.1.2. Семејство на ABCG2 транспортери.....	146
8.1.3. Семејство на ABCG2 транспортери.....	146
8.2. SLC-мембрански транспортери и одговор кон лекови.....	147
8.2.1. SLCO1B1 (OATP1B1).....	148

8.2.2. SLC6 семејство.....	148
8.2.3. SLC15 семејство.....	149
8.3. Мембрански транспортери и терапевтски одговор кон лекови.....	149
8.3.1. Фармакокинетика.....	149
8.3.2. Фармакодинамика: транспортерите како целни места за лекови.....	150
8.3.3. Мембрански транспортери и резистенција кон лекови.....	150
8.4. Мембрански транспортери и несакани ефекти кон лекови.....	151
9. ИНТЕРАКЦИИ НА ЛЕКОВИ.....	154
9.1. Вовед.....	154
9.1.1. Дефиниции, концепти, општи аспекти.....	154
9.2. Интеракции поврзани со фармакодинамичката фаза.....	155
9.3. Фармакокинетички интеракции.....	156
9.3.1. Интеракции за време на фазата на метаболизам на лекови.....	156
9.3.2. Различни избрани примери за интеракции меѓу лекови.....	160
9.4. Интеракции меѓу лекови и други компоненти.....	164
9.4.1. Интеракции на лекови со храна.....	164
9.4.2. Интеракции на лекови со алкохол.....	165
10. ЛИТЕРАТУРА.....	167

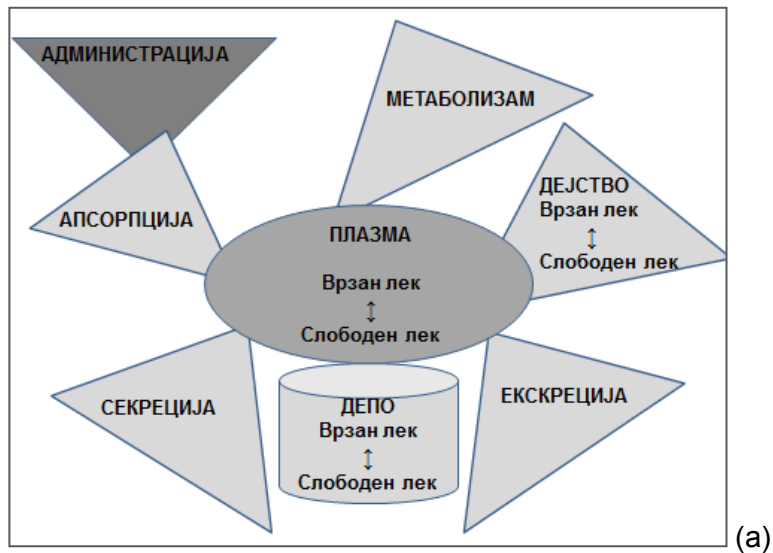
1. ВОВЕД

Постојат пет процеси од фармакокинетичката фаза во текот на диспозицијата на лекот (или друг ксенобиотик) во организмот и тоа ослободување (либерација), апсорбција, дистрибуција, метаболизам и екскреција или т.н. концепт ЛАДМЕ. Важноста на овој концепт во современиот развој на лекови е неспорна, оптимизацијата на новите лекови-кандидати со подобрена биорасположивост и контролата на продолжителноста на нивното дејство критично зависи од соодветните испитувања на нивниот метаболизам и другите фармакокинетички параметри (слика 1.1 (a)).

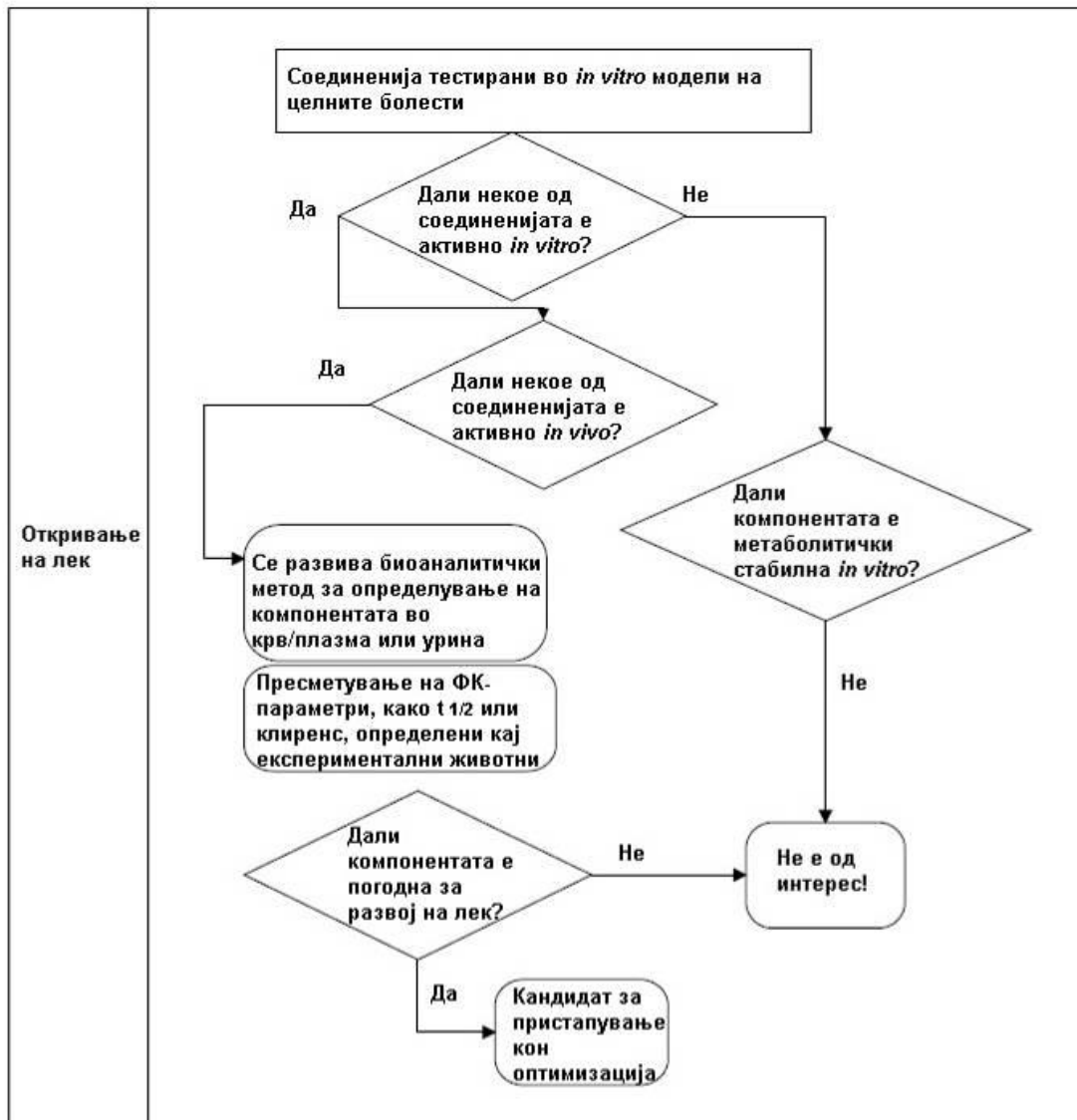
Способноста на човечкиот организам да метаболизира и екскретира лекови е природен процес кој ги вклучува истите оние ензимски патишта и транспортни системи кои се вклучени во физиолошкиот метаболизам и на нутриентите од храната. Човекот доаѓа во контакт со бројни туѓи хемикалии т.е. ксенобиотици (супстанции туѓи за телото) преку изложеност во животната средина и преку храната. За среќа, постојат начини за брза елиминација на ксенобиотиците без да се дозволи нивен штетен ефект за организмот. На пример, едни од најчестите извори на ксенобиотици во храната се од растително потекло бидејќи растенијата содржат многу структурно различни хемикалии, некои од кои се поврзани со продукцијата на пигментите во растението, а други, кои всушност се токсини (наречени фитоалексини) ги штитат растенијата од предатори. Типичен пример се отровните печурки кои содржат повеќе супстанции отровни за цицачите, како што се аманитин, гиромитрин, ореланин, мускарин, мусцимол, псилоцибин и други. Животните мора да поседуваат способност да ги метаболизираат и елиминираат овие хемикалии од својот организам за да може да консумираат растителна храна. Додека човекот може да ја избира својата храна, животните се зависни од вегетацијата во нивната животна средина и затоа, способноста да ги метаболизираат овие хемикалии од растенијата и другите извори на храна е критична за нивниот опстанок.

Лековите се претставници од групата на ксенобиотиците и повеќето од нив се интензивно подложни на метаболизам кај човекот. Многу од лековите се составени од компоненти од растително потекло (некои се користат на пример како додатоци на исхрана, хербални препарати, како основни лекови во традиционалната кинеска медицина веќе повеќе од илјадници години и сл.). Многу од антиканцерните лекови кои денес се употребуваат како основна хемотерапија во третманот на рак исто така во основа се алкалоиди од растително потекло.

Во процесот на развој и истражување на нови лекови се користат различни животински модели за симулација на *in vivo* условите во човечкиот организам. Во процесот на откривање и развој на нов лек, приоритет е да се испитаат голем број на соединенија и да се утврди кои фармаколошки активни соединенија се најпогодни за развојот на новиот лек-кандидат. Во пракса, кога се добива соединение кое ја има потребната биолошка активност, се синтетизираат голем број аналози или хемиски слични соединенија кои се тестираат за да се оптимизира склопот на карактеристики на компонентата (процесот е познат како водечка оптимизација). Слика 1.1 (б) покажува илустрација на можно сценарио во процесот на истражување на лек кој е активен *in vitro* и подобрување на неговите карактеристики преку промена на хемиската структура оптимизирана за *in vivo* активност кај човекот.



(a)

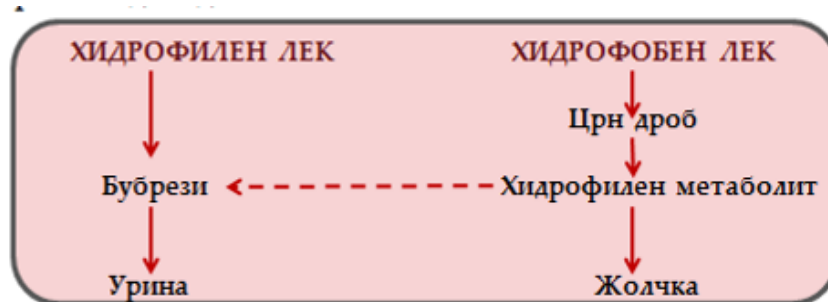


(б)

Слика 1.1. (а) Шематски приказ на меѓусебните поврзаности во ЛАДМЕ; (б) Процесен дијаграм кој покажува некои од чекорите во откривањето и развојот на нови лекови

Физиолошкиот процес на метаболизирање го прави развојот на лекови долготраен и скап процес и тоа главно поради: (1) индивидуалните варијации во човековиот метаболизирачки капацитет, (2) лек-лек интеракциите и (3) разликите меѓу животинските видови кои се користат во експериментите и човекот во експресијата на лек-метаболизирачките ензими. Последниот факт ја ограничува употребата на животинските модели во развојот на лекови. Постојат голем број на различни ензими кај животните чијашто основна функција е да метаболизираат туѓи хемикалии. Има големи меѓувидови разлики во метаболизирачката способност, така што животинските модели не можат строго да предвидат како кај човекот ќе се метаболизира даден лек. Ензимите кои учествуваат во метаболизмот на ксенобиотици историски се наречени лек-метаболизирачки ензими, иако се вклучени и во метаболизмот на многу други туѓи хемикалии на кои е изложен човекот. Еволутивните разлики кои се појавуваат меѓу различните животински видови придонесуваат за меѓувидовите варијации во комплексноста на лек-метаболизирачките ензими.

Денес, повеќето ксенобиотици на кои е изложен човекот потекнуваат од извори кои вклучуваат загадување од околината, индустриски хемикалии, адитиви во храната, козметички производи, агрохемикалии, пестициди, секундарни растителни метаболити и токсини продуцирани од мувли, преработена храна (производи на пиролиза при готвење на храната), лекови итн. Генерално, сите овие се липофилни хемикалии, кои во случај на отсуство на метаболизам нема да бидат ефикасно елиминирани и поради тоа може да се акумулираат во телото и да резултираат со токсичност. Исто така, во отсуство на биотрансформација, многу од лековите кои се користат денес би имале неприфатливо долг период на дејство. Со неколку исклучоци, сите ксенобиотици, главно се подложени на метаболизирање преку еден или повеќе патишта кои се составен дел на Фаза I и/или Фаза II од метаболизмот. Главно, метаболизмот служи за да ги конвертира овие хидрофобни хемикалии во деривати кои лесно може да се елиминираат преку урината или жолчката (слика 1.2).



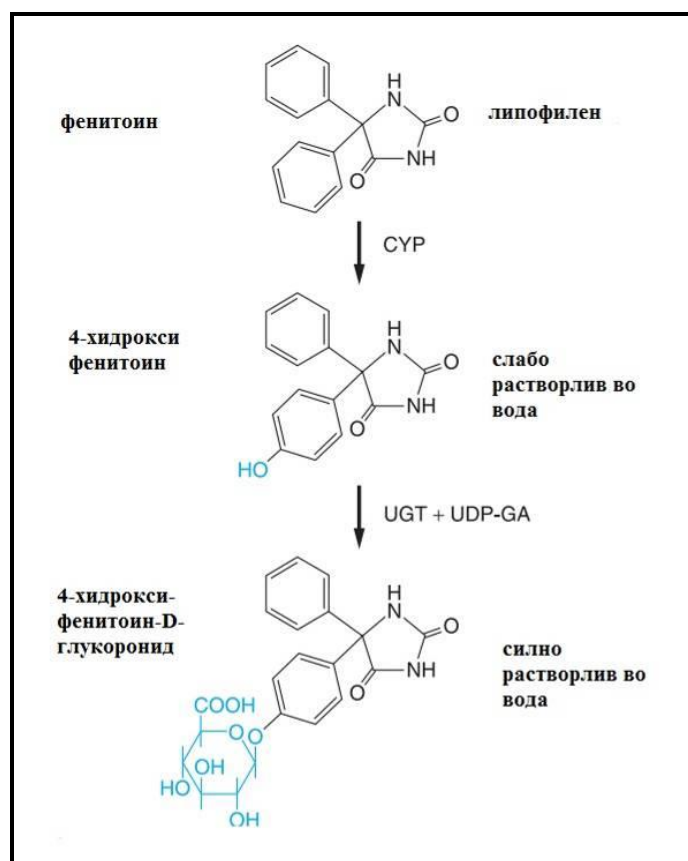
Слика 1.2. Метаболизирање на лек за елиминација преку урината или жолчката

За да може да им бидат достапни на клетките и да стигнат до местото на дејствување, лековите главно мора да поседуваат физички својства кои ќе им дозволат да се движат наспроти концентрацискиот градиент во клетката.

Бидејќи повеќето лекови се хидрофобни, овие својства треба да дозволат минување преку липидните мембрани во клетката каде што лекот ќе реагира со целните рецептори или протеини. Навлегувањето во клетката е олеснето со бројни транспортни системи на плазмената мембрана (објаснети во Поглавје 8). Ова својство на хидрофобност ги прави лековите тешки за елиминирање, бидејќи во отсуство на метаболизам, тие ќе се акумулираат во мастите и клеточните фосфолипидни двослоеве.

Ксенобиотик-метаболизирачките ензими ги конвертираат лековите и ксенобиотиците во хидрофилни деривати кои лесно се елиминираат преку екскреција во водените простори на ткивата. Затоа, процесите од метаболизмот на лекови кои водат до елиминација имаат главна улога во намалувањето на биолошката активност на лекот.

На пример, (s)-фенитоин, лек од групата антиконвулсанти кој се користи во третман на епилепсија, е практично нерастворлив во вода. Метаболизмот катализиран од страна на цитохромните P450 изоензими (CYP) во Фаза I, проследено со катализа од страна на уридин дифосфо-глукуронозилтрансферазата (UGT) во Фаза II, продуцира метаболит кој е силно водорастворлив и лесно се елиминира од телото (слика 1.3).



Слика 1.3. Метаболизам на фенитоин во Фаза I (со посредство на CYP) и Фаза II (UGT)

CYP ензимот врши хидроксилација на позиција 4 кај фенитоин до добивање на 5-(4-хидроксифенил)-5-фенилхидантоин. OH- групата служи како супстрат за UGT која конјугира една молекула глукуронска киселина со користење на UDP-GA како ко-фактор. Со ова се конвертира хидрофобната молекула на фенитоин во силно хидрофилен дериват кој се екскретира преку жолчката. Метаболизмот всушност води до намалување на биолошката активност на лекот. Во случајот на фенитоин, со процесот на метаболизам се зголемува молекулската маса на соединението, што води до поефикасна екскреција преку жолчката.

Додека ксенобиотик-метаболизирачките ензими се одговорни за олеснување на елиминацијата и детоксикацијата на хемикалиите од телото, парадоксално е тоа што истите овие ензими можат исто така да конвертираат одредени хемикалии во силно токсични и канцерогени метаболити.

За тоа колку процесот на метаболизам е важен за лековите, сведочи фактот дека од 548 нови хемиски ентитети одобрени од FDA (Food and Drug Agency; Агенција за храна и лекови на САД) во периодот од 1974 до 1999 година, околу 10 % (56 лекови) имале наведено бројни несакани ефекти при употреба или пак се повлечени од пазарот поради дејства кои се јавуваат како резултат на реакции на метаболизирање, а кои вклучуваат хепатотоксичност, кардиотоксичност (неколку како резултат од лек – лек интеракции), миелотоксичност, имунотоксичност и предупредувања при употреба кај бременни жени.

Формирањето на канцерогени метаболити е случај кога се формира нестабилно интермедиерно соединение кое е реактивно кон одредени компоненти во клетката. Хемикалиите кои преку метаболизмот се конвертираат во канцер-предизвикувачки деривати се нарекуваат канцерогени. Во зависност од структурата на хемискиот супстрат, ксенобиотик-метаболизирачките ензими продуцираат електрофилни метаболити кои може да реагираат со нуклеофилните клеточни макромолкули како што се ДНК, РНК и протеините. Ова може да предизвика клеточна смрт и токсичност кон одредени органи. Реакцијата на овие електрофили со ДНК во некои случаи може да резултира со развој на канцер преку мутација на гени како што се онкогените или тумор-супресорните гени. Генерално се верува дека повеќето канцери кај човекот се резултат од изложеност на хемиски канцерогени. Овој потенцијал за канцерогена активност го прави многу важно тестирањето на безбедноста за сите лекови-кандидати. Овој чекор на тестирање на потенцијалната канцер-предизвикувачка активност е особено критичен за лековите кои ќе се користат во терапија на хронични болести. Бидејќи секој животински вид има развиено уникатна комбинација на ксенобиотик-метаболизирачки ензими, не е веродостојно да се користат само животински модели од класите не-примати во тек на развојот и тестирањето на безбедноста на нов лек-кандидат. Но, засега сè уште, задолжителни тестови во претклиничките тестирања на животни се моделите на глодари (стаорци и глупци) со кои вообичаено може да се идентификуваат потенцијалните канцерогени.

2. ПРИНЦИПИ НА МЕТАБОЛИЗАМ НА КСЕНОБИОТИЦИ

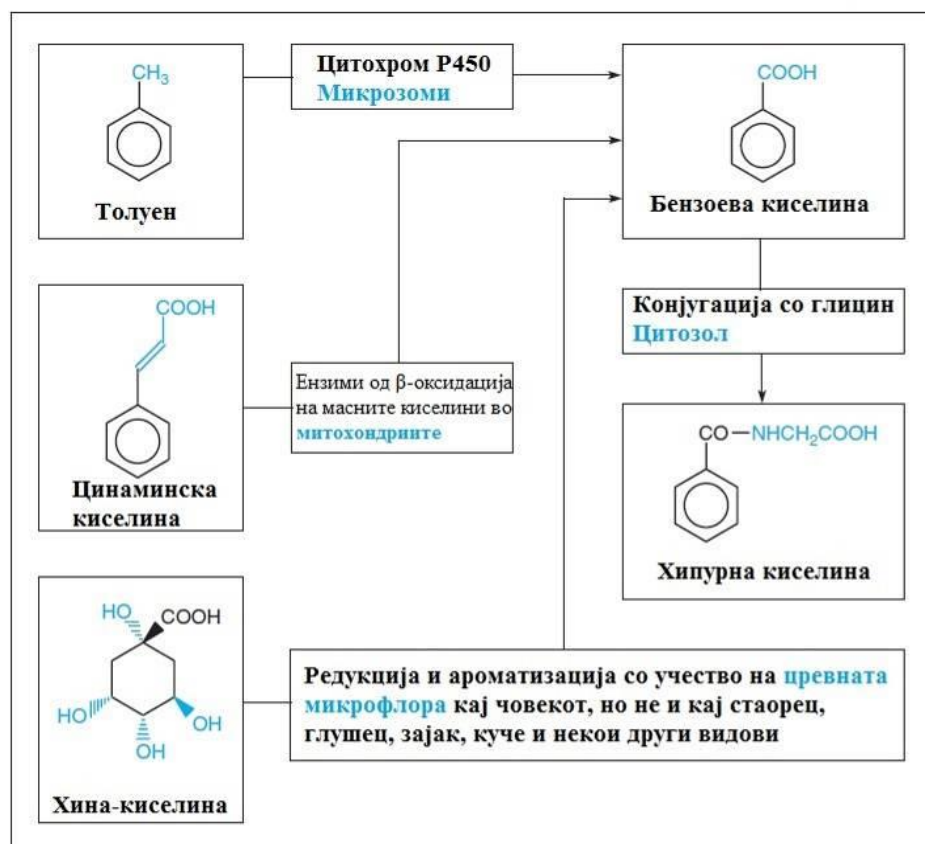
Тешко е да се набројат категорични факти за метаболизмот на ксенобиотиците, бидејќи постои исклучок од секое правило. Сепак, следните точки, кои може да се земат како принципи или правила, се применуваат во најголемиот број случаи кога се разгледува метаболизмот на лекови:

1. Метаболизмот на ксенобиотиците (вклучувајќи ги и лековите) е процес на трансформирање на липофилните (растворливи во масти) хемикалии, кои лесно се апсорбираат од гастроинтестиналниот тракт и други места, во хидрофилни (растворливи во вода) хемикалии, кои лесно се екскретираат во урината или жолчката. Постојат исклучоци дури и за ова најосновно правило. На пример, реакциите на ацетитирање и метилација се метаболизирачки реакции кои всушност можат да ја намалат растворливоста во вода на некои метаболити на лекови.
2. Метаболизмот на ксенобиотиците се катализира од страна на различни ензимски системи кои можат да бидат поделени во 4 категории врз основа на реакцијата која ја катализираат:
 - Хидролиза (на пример, карбоксилестераза);
 - Редукција (на пример, карбонил редуктаза);
 - Оксидација (на пример, цитохром P450);
 - Конјугација (на пример, UDP-глукуронозилтрансфераза).

Метаболизмот на ксенобиотиците главно се катализира од ензими, но постојат и исклучоци. На пример, хидролизата на одредени естри на карбоксилни киселини и фосфорна киселина, редукцијата на сулфоксиди до сулфиди (на пример, рабепразол), изомеризацијата која вклучува кето-енолна таутомеризација (на пример, талидомид) и конјугацијата на одредени ксенобиотици со глутатион може да се одвиваат и неензимски.

3. Во принцип, индивидуалните ензими од метаболизмот на ксенобиотиците се лоцирани во еден вид специфични органели. Но, за некои ензими постојат и две или повеќе субклеточни локации. На пример, епоксид хидроксилазата лоцирана во митохондриите е различен ензим од епоксид хидроксилазата лоцирана во цитозолот (т.е. овие два ензими се продукти на различни гени).
4. Метаболизмот на ксенобиотиците се остварува преку ограничен број на ензими со широка специфичност за супстрати. Кај луѓето, на пример, два цитохром P450 ензими – т.е. CYP2D6 и CYP3A4 – метаболизираат скоро повеќе од половината од ефективните лекови за орална употреба. Широката, а понекогаш и преклопувачката супстратна специфичност на метаболизирачките ензими, ја исклучува можноста за именување на индивидуалните ензими по реакциите кои тие ги катализираат (како што е случај со именувањето на повеќето други ензими). Многу од ензимите вклучени во метаболизмот на ксенобиотиците се именувани според системи на номенклатура базирани на примарната аминокиселинска секвенца на индивидуалните ензими. Структурата (т.е. аминокиселинската секвенца) на даден ксенобиотик-метаболизирачки ензим може да се разликува помеѓу индивидуите, што може да ја зголеми разликата во брзината на метаболизмот на лекот. Во принцип, варијанта на ксенобиотик-метаболизирачки ензим (позната како алелна варијанта или алелоензим) има намалена ензимска активност споредено со онаа на „дивиот“-тип на ензим, иако ова не е секогаш случај (види: „Алкохол дехидрогеназа“ во Поглавје 3).

5. Хидролизата, редукцијата и оксидацијата разоткриваат или воведуваат функционални групи (како што се $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$ или $-\text{COOH}$) кои можат да реагираат и да ги конвертираат родителските соединенија во водо-растворливи конјугати. Овие три реакции (хидролиза, редукција и оксидација) се наречени Фаза 1 реакции, а реакциите на конјугација се наречени Фаза 2 реакции на метаболизмот.
6. Не сите метаболизирачки реакции кај цицачите се катализираат од страна на ензимите припадници на Фаза 1 и Фаза 2. Некои реакции на метаболизам се катализираат од ензими на цревната микрофлора (во голема мера анаеробните бактерии во колонот), додека метаболизмот на други ксенобиотици се катализира од ензими кои партиципираат во интермедиерниот (ендобиотски) метаболизам. Ова е илустрирано на слика 2.1 за три вида на ксенобиотици кои се конвертираат прво до бензоева киселина, а потоа до хипурна киселина.



Слика 2.1. Примери на метаболизам на ксенобиотици од страна на различни ензимски системи: ксенобиотик-метаболизирачки ензими (цитохром Р450), ендобиотик-метаболизирачки ензими и цревната микрофлора

Трансформацијата на толуен до хипурна киселина се катализира од страна на некои ксенобиотик-метаболизирачки ензими од Фаза 1: микрозомалниот CYP P450 го конвертира толуенот до бензоева киселина во три оксидативни чекори ($\text{R}-\text{CH}_3 \rightarrow \text{R}-\text{CH}_2\text{OH} \rightarrow \text{RCHO} \rightarrow \text{RCOOH}$), во кои се воведува функционална група (имено, $-\text{COOH}$) која потоа се конјугира со глицин за да се добие хипурна киселина која на крај се екскретира во урината. Цинаминската киселина исто така се конвертира до бензоева киселина, но во овој случај, реакцијата се катализира од страна на митохондријалните ензими вклучени во β -оксидацијата на масните киселини. Хина-киселината исто така се конвертира до бензоева киселина, но оваа редуктивна реакција во повеќе чекори се катализира од цревната микрофлора. Патем, конверзијата на бензоева киселина до

хипурна киселина е од историски интерес, бидејќи е признаена како прва откриена реакција на метаболизам на ксенобиотик (кај кучиња од страна на Велер во 1828 година, а кај луѓето од страна на Ур во 1841 година). Некои лекови се намерно дизајнирани така да се метаболизираат од страна на ендобиотик-метаболизирачките ензими. На пример, анти-ХИВ лекот зидовудин (AZT) се конвертира во трифосфат нуклеозид преку ензимите нуклеозид киназа, нуклеозид монофосфат киназа (NМК) и нуклеозид дифосфат киназа (NDK). Инхибиторите на ХИВ – реверзната транскриптаза, како зидовудин, се администрираат како нефосфорилирани аналози за да се олесни нивната апсорпција и клеточното преземање.

Спротивно на ова, некои лекови се администрираат како фосфорилиран пролек (на пример, фосампренавир) за да се промовира нивната растворливост во вода и стапката на дисолуција. Луминалната површина на тенкото црево содржи високи нивоа на алкална фосфатаза која го хидролизира лекот фосампренавир и со тоа се ослободува активен лек на површината на ентероцитот каде што истиот се апсорбира. Општо земено, киназата и алкалната фосфатаза обично не се сметаат за ксенобиотик-метаболизирачки ензими.

7. Исто како што некои ксенобиотици се метаболизираат од страна на т.н. ендобиотик-метаболизирачки ензими (точка 6), одредени ендобиотици се метаболизираат од т.н. ксенобиотик-метаболизирачки ензими. На пример, истите цитохром P450 ензими вклучени во метаболизмот на ксенобиотиците исто така придонесуваат и за хепаталниот катаболизам на стероидните хормони, а истите UDP-глукуронозилтрансферази кои ги конјугираат ксенобиотиците, исто така ги глукуронизираат и билирубинот, тироидните и стероидните хормони.
8. Некои ксенобиотик-метаболизирачки ензими се индуцибилни, што значи нивната експресија може да биде зголемена (надрегулирана) обично како одговор на изложеноста на високи концентрации на ксенобиотици. Индукцијата обично е посредувана од страна на лиганд-активирани рецептори (т.н. ксеносензори) кои се активираат од ксенобиотици (лиганди) до ДНК-врзувачки протеини кои ја надрегутираат транскрипцијата на различни гени кои кодираат ксенобиотик-метаболизирачки ензими, особено цитохром P450 ензими, кои обично се индуцираат во најголем степен. Главните ксеносензори се: арил јаглеводородниот рецептор (AhR) кој индуцира CYP1 ензими, конститутивниот андростански рецептор (CAR) кој ги индуцира CYP2B, 2C и 3A ензимите, прегнан X рецепторот (PXR) кој исто така ги индуцира CYP2B, 2C и 3A ензимите и пероксизомски пролифератор активираниот рецептор-алфа (PPAR α) кој ги индуцира CYP4 ензимите. Одредени ксеносензори се активираат од ендогени лиганди (на пример, билирубинот, жолчните киселини и масните киселини ги активираат CAR, PXR и PPAR α , соодветно), додека пак одредени јадрени рецептори, како што е витамин D рецепторот (VDR), можат да го мимикрираат PXR и да го индуцираат CYP3A4, кој пак го инактивира активниот метаболит на витамин D. Овие примери илустрираат како ксеносензорите не само што се вклучени во диспозицијата на ксенобиотиците туку исто така играат улога и во хомеостазата на ендобиотиците. Индукцијата е реверзибилен, адаптивен одговор на експозицијата кон ксенобиотици. Индуцираните ензими (и транспортери) обично го забрзуваат елиминирањето на ксенобиотикот кој го предизвикал индуцирањето на процесот, во кој случај за ксенобиотикот се вели дека е автоиндуктор (оној кој го индуцира сопствениот метаболизам).
9. Способноста на некои ксенобиотик-метаболизирачки ензими да ги метаболизираат и хормоните и другите ендобиотици (точка 7) е важна за можноста одредени ксенобиотици да ги индуцираат овие ензими (точка 8) и има значење во согледувањето на важниот механизам преку кој одредени

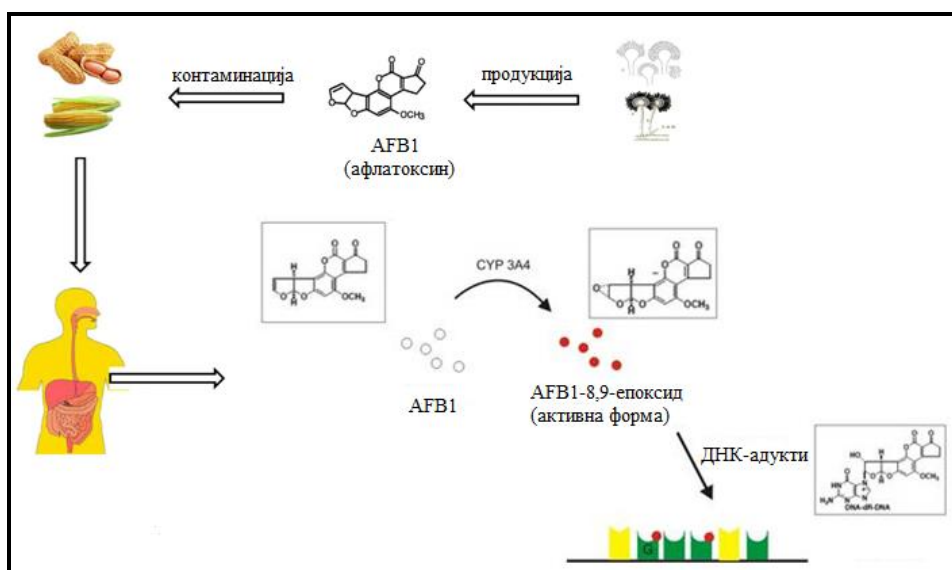
ксенобиотици можат да ја променат хомеостазата или да предизвикаат токсичност во организмот. Постојаната изложеност на ксенобиотици кои се ензимски индуктори може да ја зголеми брзината на оксидација на стероидните хормони од страна на цитохром P450 и да ја зголеми брзината на глукуронидација и сулфатирање на тироидниот хормон која, кај глодарите на пример, може да доведе до развој на тумори на Лајдиговите клетки (поради покачените нивоа на TSH), соодветно. Постојаната експозиција на индуктори на ензими може исто така да предизвика и тумори на црниот дроб (потврдено во експерименти кај глодари), иако механизмот не е целосно разјаснет.

10. Метаболизмот на ксенобиотите може да ги измени биолошките особини на ксенобиотите. Може да го конвертира ксенобиотикот во помалку токсичен (детоксикација), но во некои случаи може да го конвертира и во потоксичен (активација). Оксидацијата на етанолот до ацеталдехид е пример за ксенобиотична активација, а последователната оксидација на ацеталдехидот до оцетна киселина е пример за детоксикација. Метаболизмот на лековите може да резултира со: (1) губење на фармаколошката активност (на пример, конверзија на ацетаминофен до ацетаминофен глукуронид и конверзија на морфин до морфин-3-глукуронид), (2) да нема промена во фармаколошката активност (на пример, конверзија на флуоксетин до неговиот N-деметиран метаболит норфлуоксетин) или (3) зголемување на фармаколошката активност (на пример, конверзија на кодеин до морфин, како и конверзија на морфин до морфин-6-глукуронид).
11. Во многу случаи, токсичноста на ксенобиотикот се должи на родителското соединение (соединението кое е апсорбирано) и во таков случај, метаболизмот на ксенобиотикот служи како механизам за детоксикација. Ова е илустрирано од клиничкото набљудување дека инциденцата за несакани ефекти од лековите е поголема кај индивидуи со фенотип на „слаби“ метаболизатори. Сепак, ксенобиотик-метаболизирачките ензими можат да конвертираат одредени ксенобиотици во реактивни (електрофилни) метаболити и овој процес на активација игра важна улога за хемиската токсичност и хемиската мутагеност/канцерогеност. Токсичноста често вклучува ковалентно врзување на електрофилните метаболити со критичните клеточни нуклеофили како што се протеините, додека мутагеноста/канцерогеноста вклучува ковалентно поврзување за една или повеќе пурински или пиримидински бази во ДНК. Полицикличните ароматични јаглеводороди (загадувачи кои се производи на согорување и состојки на чад од цигари), ароматичните амини (индустриски хемикалии), афлатоксинот (микотоксин), продуктите на пиролиза при готвење на храна и тутун-специфичните нитрозамини се примери за непосредни канцерогени кои имаат потреба од метаболичка активација за да се формираат електрофилни, ДНК-врзувачки метаболити (терминални канцерогени). Одредени антиканцерни лекови имаат потреба од активација преку лек-метаболизирачките ензими со цел да ги изразат антинеопластичните ефекти. На пример, циклофосфамид се активира од страна на CYP2B6 и неколку други цитохром P450 ензими, а експерименталниот лек означен како TLK286 се активира од страна на глутатион-S-трансферазата (GST).
12. Токсичноста и потенцијалната канцерогеност на електрофилните метаболити продуцирани од цитохром P450 и другите ксенобиотик-метаболизирачки ензими се намалува и честопати се елиминира преку нивната конјугација со глутатион. Во поголемиот дел од случаите, конјугацијата со глутатион претставува реакција на детоксикација т.е. ги штити критичните клеточни нуклеофили, како што се протеините и ДНК, од ковалентна модификација. Сепак, постојат и

случаи (на пример, дибромометан) каде при конјугацијата со глутатион всушност се продуцира ДНК-реактивен (мутаген) метаболит.

13. Метаболизмот на некои ксенобиотици резултира со продукција на силно реактивни кислородни радикали (Reactive Oxygen Species, ROS) кои можат да предизвикаат клеточна токсичност (индуцирајќи оштетување на ДНК) преку оксидативен стрес и липидна пероксидација.
14. Балансот помеѓу активацијата и детоксикацијата од страна на ксенобиотик-метаболизирачките ензими е често клучна детерминанта на хемиската токсичност и е често основата за разликите во токсичноста помеѓу различните органи или животински видови. На пример, афлатоксинот се конвертира од страна на црндробниот микрозомален цитохром P450 во реактивен епоксид за кој се мисли дека е одговорен за хепатотоксичниот и хепатоканцерогениот ефект на овој микотоксин (слика 2.2). Фактот дека оваа реакција се случува во црниот дроб објаснува зошто афлатоксинот предизвикува токсичност и тумори токму на црниот дроб.

Друг пример за илустрација е кумаринот којшто е хепатотоксичен за стаорците, но не и за луѓето. Разликата помеѓу видовите може да се препише на разликата во метаболитите кои се формираат од страна на цитохром P450. Стаорците го конвертираат кумаринот во реактивен епоксид кој се преуредува до реактивен алдехид, додека луѓето го конвертираат кумаринот до релативно нетоксичниот метаболит 7-хидроксикумарин (умбелиферон).



Слика 2.2. Метаболитичка трансформација на афлатоксин

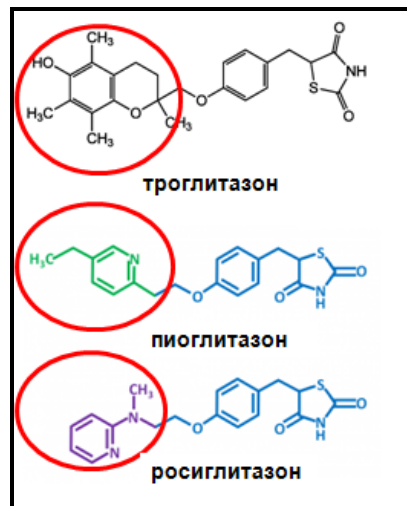
15. Изложувањето на ксенобиотици (особено лекови) е во голема мера преку орална ингестија и затоа тенкото црево и црниот дроб се високо специјализирани за да го лимитираат системското изложување на орално ингестираните ксенобиотици, процес кој е познат како елиминација при прв премин (пресистемска елиминација). Ентероцитите на врвовите на ресичките од тенкото црево вршат експресија на ефлукс транспортерот P-гликопротеин (исто така познат како MDR1 или ABCB1), кој служи да ја лимитира апсорпцијата на ксенобиотиците. Ентероцитите експресираат високи нивоа на одредени цитохром P450 и UDP-глукуронозилтрансферазни ензими, кои метаболизираат широк спектар на ксенобиотици. Црниот дроб врши експресија на транспортери кои вршат преземање и активно ги отстрануваат

ксенобиотиците од крвта. Тие исто така експресираат голем број на ефлукс-транспортери кои активно ги екскретираат ксенобиотиците или нивните метаболити (особено конјугати) во жолчните каналчиња за билијарна екскреција, или низ синусоидалната црнодробна мембрана назад во крвта за уринарна екскреција. Бидејќи црниот дроб содржи највисоки концентрации на повеќето ксенобиотик-метаболизирачки ензими и бидејќи бројот на хепатоцити во црниот дроб го надминува бројот на ентероцити во тенкото црево, може да се претпостави дека, споредено со црниот дроб, тенкото црево има само мал придонес за метаболизмот при прв премин, но и тоа не е секогаш случај. На пример, фуранокумарините во сокот од грејпфрут го инхибираат интестиналниот, но не и хепаталниот CYP3A4 и дополнително, сокот од грејпфрут го зголемува системското изложување на фелодипин и други лекови кои подлежат на метаболизам при прв премин преку ензимот CYP3A4. Тенкото црево и црниот дроб се изложени на високи концентрации на ксенобиотици и тие поседуваат високо ниво на ензими кои потенцијално ги конвертираат ксенобиотиците до реактивни или токсични метаболити. Можеби и не е изненадувачки дека и двете ткива поседуваат заштитни механизми за да се минимизира ризикот од токсичноста на ксенобиотикот или можната канцерогеност. Како што е веќе споменато, обете ткива имаат ензими и транспортери кои ја олеснуваат елиминацијата на ксенобиотиците и нивните метаболити. Во двете ткива, неколку од ксенобиотик-метаболизирачките ензими и транспортери се индуцибилни, овозможувајќи им на црниот дроб и тенкото црево да реагираат на високите нивоа на ксенобиотици преку зголемување на брзината на метаболизмот и елиминација на ксенобиотикот. Како дополнително, сериозно оштетените хепатоцити можат да подлежат и на апоптоза (програмирана клеточна смрт) за да се елиминираат преканцерозните клетки (т.е. клетките со преголемо оштетување на ДНК).

16. Некои од истите механизми кои ги штитат тенкото црево и црниот дроб од токсичноста на ксенобиотиците исто така штитат и одредени други органи како што се ЦНС или репродуктивните органи. Ксенобиотиците кои навлегуваат во системската циркулација често не успеваат да стигнат до ЦНС поради крвно-мозочната бариера, која е физичка бариера за транспортот на ксенобиотиците (во форма на тесните вкрстени поврзувања) и биохемиска бариера особено поради ефлуксниот транспортер Р-гликопротеин. Герминативните клетки во тестисите се заштитени делумно со крвно-тестисната бариера, преку високите нивоа на глутатион (како и ензимите глутатион-S-трансфераза и глутатион пероксидаза) и преку високиот обрт на клетките (како во случајот на ентероцитите). Јајце клетките, кои речиси немаат клеточен обрт, поседуваат високи нивоа на глутатион (8 mM и повеќе) и со тоа се штитат од ДНК-реактивните електрофили и од оксидативниот стрес кои се јавуваат при изложување на ксенобиотикот или фертилизацијата.
17. Иако тенкото црево и црниот дроб ги содржат највисоките концентрации, ксенобиотик-метаболизирачките ензими се сепак широко дистрибуирани во телото. Во смисла на специфична содржина (т.е. количината на ензими врз база на mg протеин), некои од највисоките концентрации на ксенобиотик-метаболизирачките ензими се наоѓаат во назалниот епител кој е влезна врата за многу испарливи ксенобиотици. Ксенобиотик-метаболизирачките ензими во белите дробови, окото и кожата можат да бидат особено важни во метаболизмот на лекови администрирани по пат на инхалација, или како капки за очи или локално, соодветно. Бубрезите експресираат неколку ксенобиотик-метаболизирачки ензими, како дополнително на многуте транспортери кои активно ги секретираат ксенобиотиците (особено киселите метаболити) во

урината. Бубрезите исто така ги метаболизираат и глутатионските конјугати формирани во црниот дроб.

- 18.** Кај сексуално зрелите стаорци и во помала мера, глувците, постојат значајни полови разлики во експресијата на одредени ксенобиотик-метаболизирачки ензими (и оксидативни и конјугациони ензими). Кај други животински видови, вклучувајќи го и човекот, половите разлики или не постојат или генерално претставуваат двојно помала разлика, додека разликите кај глодарите можат да бидат во магнитуден опсег или дури и двојно поголеми. Поради голема позадина на интериндивидуалната варијација кај секој пол, често е тешко да се распознаат половите разлики во метаболизмот на ксенобиотиците кај луѓето иако, општо земено, се чини дека кај жените има пониска активност на CYP1A2 и повисока активност на CYP3A4 отколку кај мажите. Особено интересно е тоа што, во споредба со мажите, се чини дека жените имаат повисока инциденца за идиосинкрална токсичност од лекови, што е причина за голем број предупредувања и повлекувања од употреба на повеќе лекови (види во точка 19).
- 19.** Идиосинкралните реакции на лековите (IDR) се ретки несакани ефекти ($< 0,1\%$) кои не вклучуваат нагласен фармаколошки одговор, не се јавуваат кај повеќето пациенти при која било дадена доза од лекот и обично не се јавуваат непосредно по изложување, но се јавуваат по неколку недели или месеци при повторена администрација. IDR се исто така познати и како Тип В реакции и можат да бидат поделени во алергиски и неалергиски. Хепатотоксичноста е распространета IDR. Во многу случаи постои доказ кој вклучува присуство на реактивен метаболит при идиосинкралната хепатотоксичност. Важно е дека таквите метаболити имаат тенденција да се формираат кај сите индивидуи, па овој факт ги остава неодговорени критичните прашања за тоа кој фактор или фактори го прават малиот дел од популацијата склон кон хепатотоксичните ефекти на лековите (од кои многу предизвикуваат само мала или незабележлива токсичност на црниот дроб кај лабораториските животни). На пример, лековите росиглитазон и пиоглитазон го содржат истиот тиазолидиндионски прстен кој се содржи и кај троглитазонот, но кој кај последниов лек се конвертира во реактивен метаболит (слика 2.3). Троглитазонот е повлечен од употреба поради појава на идиосинкрална хепатотоксичност. Оваа разлика може да се должи на многу поголемата дневна доза на троглитазон (300 mg) во споредба со росиглитазон (4 – 8 mg) и пиоглитазон (15 – 45 mg). Постои општо правило дека лековите кои се администрираат во дневна доза од 10 mg или помалку не предизвикуваат идиосинкрална токсичност. Дополнително во 2010 год. и росиглитазонот е повлечен од употреба во ЕУ поради утврдување на зголемен ризик од срцев инфаркт кај пациентите кои се на терапија со овој лек. И пиоглитазонот во определени земји (Франција, Германија) е со препорака за внимателно користење поради постоечки податоци за поврзаност со зголемен ризик од канцер на мочниот меур кај пациенти кои го примаат лекот во период подолг од две години. Други примери на тесно структурно поврзани лекови каде едниот предизвикува, а другиот не предизвикува хепатотоксичност се: толкапон/ентакапон, тиклопидин/клопидогрел, аминиптин/тианептин, тамоксифен/торемифен, ибуфенак/ибупрофен, ебротидин/фамотидин и ниперидотин/ранитидин. Други лекови кои се повлечени од употреба или пак се со предупредување од појава на идиосинкрална хепатотоксичност се дадени во табела 2.1.



Слика 2.3. Структурни формули на троглитазон, росиглитазон и пиоглитазон, лекови кои содржат исти тиазолидиндионски прстен, а имаат различно изразена идиосинкрална токсичност

Табела 2.1. Лекови повлечени од употреба или со предупредување од појава на идиосинкрална хепатотоксичност

Име на лекот	Доза (mg)	Индикација	Реактивен метаболит или докажана ензимска инхибиција
Лекови повлечени од употреба поради појава на идиосинкрална хепатотоксичност			
Беноксапрофен	300-600	НСАИЛ	Ацил глюкуронид
Бромфенак	25-50	НСАИЛ	Ацил глюкуронид
Ипрониазид	25-150	Депресија	Инхибиција на MAO-B
Нефазодон	200	Депресија	Хинонимин, инхибиција на CYP2C9
Троглитазон	400	Дијабетес	Хион метид, α -кетозицијанат
Предупредување од појава на идиосинкрална хепатотоксичност при употреба			
Ацитретин	25-50	Псоријаза	Етретинат
Дакарбазин	140-315	Меланом, лимфом	Метил диазохидроксид и метил катјон (CH_3^+)
Дантролен	300-400	Мускулен релаксанс	Нитро-редуцирани интермедиери кои се врзуваат за GSH
Флутамид	750	Канцер на простата	Непознати метаболити кои се врзуваат со протеините и GSH
Изонијазид	300	Туберкулоза	Ензимска инхибиција на CYP1A1, 2A6, 2C19 и 3A4
Кетоконазол	200	Габични инфекции	Ди-алдехид
Толкапон	300	Паркинсонизам	Нитро редукција и формирање на хинонимин
Валпроична киселина	1000-4200	Епилепсија	Естерификација на CoA и епоксидација

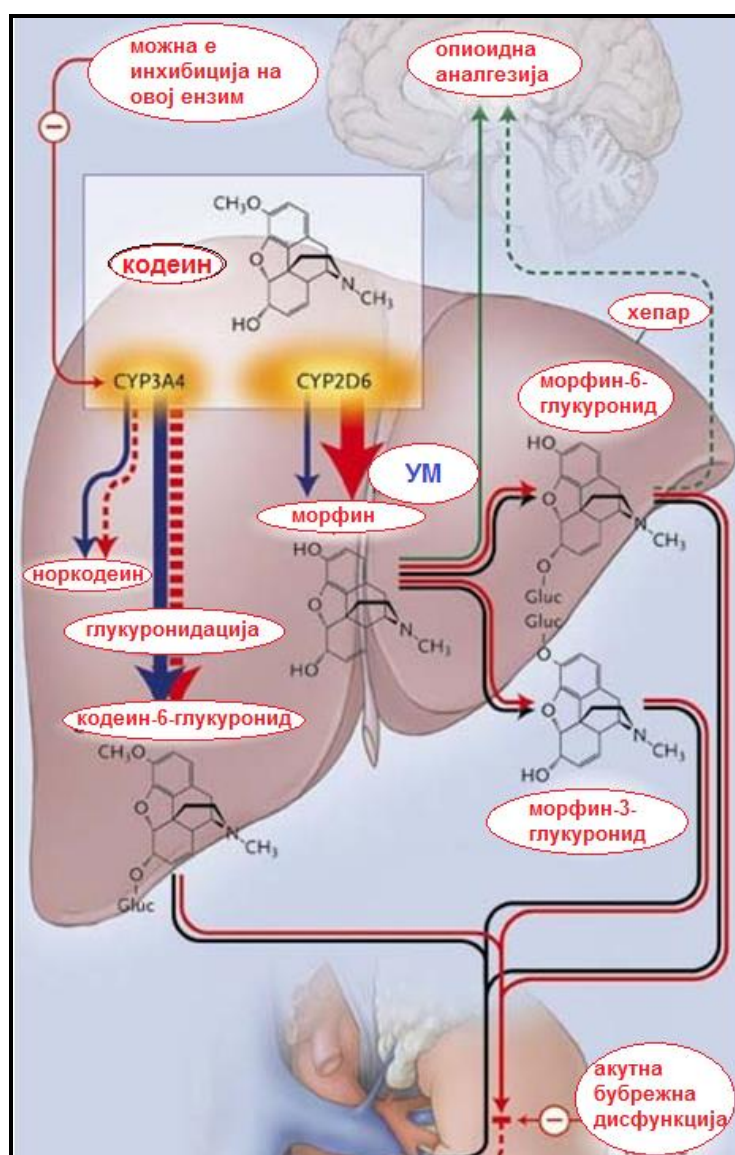
20. Иста доза на лек (или било кој друг ксенобиотик) администрирана на луѓе често резултира со големи интериндивидуални разлики во изложувањето на родителското соединение (обично се мери како површина под кривата плазма-

концентрација-време или AUC). Оваа варијација може да биде одраз на генетски детерминирани разлики во активноста на ксенобиотик-метаболизирачките ензими или транспортерите, т.н. генетски полиморфизми или пак разлики од околината, како што се интеракциите лек-лек.

21. Проучувањето на причините, преваленцата и влијанието на наследните разлики кај ксенобиотик-метаболизирачките ензими е познато како *фармакогенетика*. Тоа е основа на концептот на индивидуализираната медицина денес, каде што дозирањето на лековите со тесен терапевтски индекс (какви што се антиканцерните лекови на пример) е прилагодено во однос на генотипот на индивидуата (т.е. потенцијалот за метаболизирање на лекот). Генетската варијација во ксенобиотик-метаболизирачките ензими дава четири видливи фенотипови: слаби (бавни) метаболизатори (СМ), просечни метаболизатори (ПМ), екстензивни метаболизатори (ЕМ) и ултрабрзи метаболизатори (УМ), кои произлегуваат од експресијата на нефункционалните алели (-/-) за СМ, еден нефункционален алел и еден делумно функционален алел или два делумно функционални алели (-/* или */*) за ПМ, еден или два функционални алели (+/-, +/* или +/+) за ЕМ и генска дупликација ([+/+]n) за УМ. Основните карактеристики на овие четири фенотипа се дадени во табела 2.2. За оние ензими кои се полиморфно експресирани, како што е CYP2D6, инциденцата на СМ (и УМ) генотипот може широко да варира од една до друга расна група во популацијата. На пример, CYP2D6 СМ генотипот е заеднички помеѓу белата раса, но не и кај Азијатите. Постојат помал број случаи каде УМ, а не СМ се изложени на зголемен ризик, особено во случаи каде полиморфниот ензим го катализира формирањето на фармаколошки активен токсичен метаболит. На пример, CYP2D6 го конвертира пролекот кодеин во активен метаболит морфин и постојат извештаи за интоксикација со морфин кај CYP2D6 УМ (слика 2.4.). Опишани се многу случаи каде СМ фенотипот има потреба од прилагодување на дозата за да се спречи токсичноста на лекот или нагласениот фармаколошки одговор. На пример, CYP2D6 СМ се изложени на зголемен ризик од хепатотоксичност предизвикана од перхексилен и изложени на зголемен ризик од нагласен фармаколошки одговор кон дебрисоквин и спартеин, три лекови кои не се одобрени за употреба во САД поради високата инциденца од несакани реакции кај СМ. Од друга страна, кога лековите се конвертираат во активни метаболити преку CYP2D6, тогаш СМ даваат неадекватен терапевтски ефект. На пример, CYP2D6 го конвертира кодеинот до морфин; оттука, кодеинот е помалку ефикасен аналгетик кај СМ. Слично на тоа, CYP2D6 го конвертира тамоксифенот (лек против рак на дојка) до ендоксифен (кој е 30-100 пати попотентен од тамоксифенот во супресирањето на естроген-зависната клеточна пролиферација), па оттука, CYP2D6 СМ се изложени на зголемен ризик од повторување на ракот на дојка после адјувантна терапија со тамоксифен. Генетските полиморфизми на ксенобиотик-метаболизирачките ензими имаат влијание и врз инциденцата на одредени болести кај кои се важни и надворешни фактори. На пример, полиморфизмите на алкохол дехидрогеназата и алдехид дехидрогеназата поради расните разлики влијаат на инциденцата за појава на алкохолизам. Генетскиот полиморфизам може да биде и главната причина за појава на болест. На пример, тешката и благата хипербилирубинемија поврзани со Криглер-Најар синдромот и Гилберт-овиот синдром, соодветно, се карактеризираат со комплетен или делумен губиток на UDP-глукуронозилтрансферазата одговорна за конјугирање на билирубинот, односно формата UGT1A1.

Табела 2.2. Основни карактеристики на четирите фенотипа на метаболитори

Фенотип	Брзина на метаболизам	Плазмено ниво на лекот	Клинички исход	Индивидуализирана терапија
СМ	/	Токсично	Несакани ефекти	Да се намали дозата за да се намали токсичноста
ПМ	Намалена	Високо	Понекогаш несакани ефекти	Нормално дозирање
ЕМ	Нормална	Нормално	Нормален одговор	Нормално дозирање
УМ	Зголемена	Ниско	Намалена ефикасност	Да се зголеми дозата за да се зголеми ефикасноста

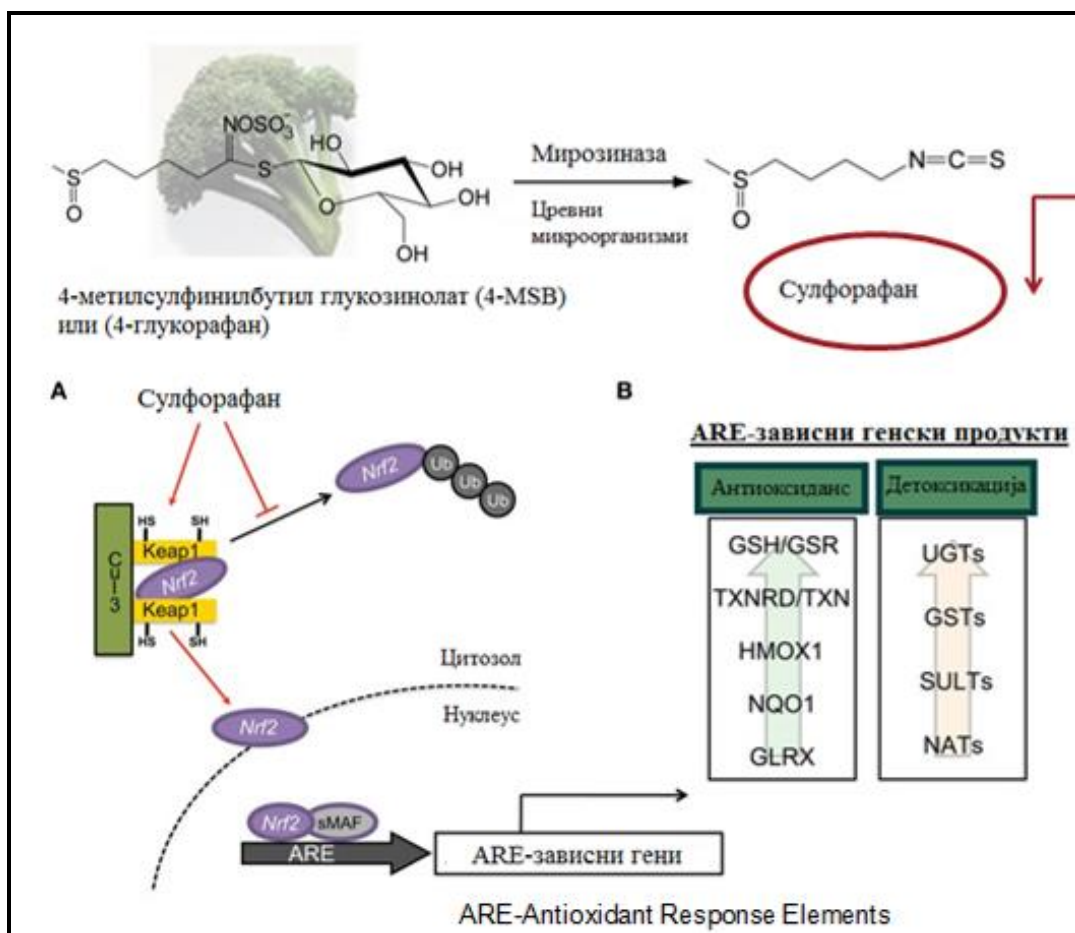


Слика 2.4. Метаболизам на кодеин (пролек) до морфин

22. Факторите на животната средина можат да воведат многу варијации во метаболизмот како што можат и генетските фактори што е особено важно за лек-лек интеракциите. Ако се земе CYP3A4 како пример, CM фенотипот може да се создаде фармаколошки со примена на инхибитори (како што се лековите кетоназол и еритромицин), додека UM фенотипот може да се создаде фармаколошки со примена на индуктори (како што се рифампицин и примена на растението жолт кантарион). Терфенадин (Seldane), цисаприд (Propulsid), астемизол (Hismanal) и церивастатин (Baycol) се лекови подложни на вакви интеракции и тоа толку многу изразени што сите тие се повлечени од пазарот. Првите три лека екстензивно се метаболизираат од страна на CYP3A4. Инхибицијата на CYP3A4 преку различни антимикотични лекови, како што е кетоназол, или антибиотски лекови како еритромицин, го намалува излучувањето на терфенадин, цисаприд и астемизол и ги зголемува нивните плазмени концентрации до нивоа кои, кај некои индивидуи, предизвикуваат вентрикуларни аритмии (QT пролонгација) што може да резултира со фатален срцев инфаркт. Церивастатинот екстензивно се метаболизира од CYP2C8. Неговиот метаболизам се инхибира од страна на гемфиброзил (всушност преку гемфиброзил глукуронидот) и комбинацијата на церивастатин (Baycol) и гемфиброзил (Lopid) е асоцирана со висока инциденца од фатална, церивастатин-индуцирана рабдомиолиза.

Хербалните лекови можат исто така да стапат во интеракција со лековите. На пример, жолтиот кантарион содржи хиперфлорин, кој е потентен PXR агонист како што е истовремено и индуктор на CYP3A4 (заедно со неколку други ксенобиотик-метаболизирачки ензими) и P-гликопротеинот. За да се спречи губитокот на терапевската ефикасност, употребата на хербални препарати кои содржат кантарион не се препорачува кај пациенти кои примаат имunosупресивни лекови (како што се циклоспорин и такролимус), анти-ХИВ лекови (како индинавир и невирапин), антикоагуланси (како варфарин и фенпрокумон) или орални контрацептиви.

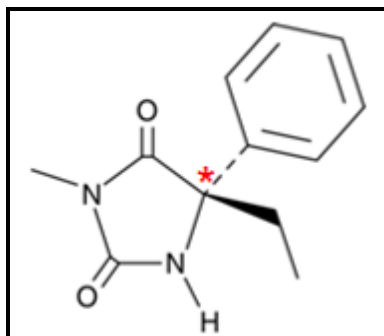
И храната може да влијае на диспозицијата на лековите на различни начини. Може да влијае на апсорпцијата, поради што некои лекови се земаат со храна, а некои се земаат помеѓу оброците; големи количини на зелјест зеленчук (на пример, брокула и бриселско зелје) можат да го индуцираат хепаталниот CYP1A2 (слика 2.5.), додека сокот од грејпфрут може да го инхибира интестиналниот CYP3A4.



Слика 2.5. Индукциски механизам на сулфорафан, компонента во брокулата, која е индиректен антиоксиданс и има уникатна способност да индуцира повеќе ензими (детоксикациски ефект)

- 23.** Иако лек-лек интеракциите можат да предизвикаат зголемување на инциденцата за несакани ефекти од лековите или, во случај на индукција, губење на терапевтската ефикасност, не сите лек-лек интеракции се несакани. На пример, некои анти-ХИВ лекови, како ритонавир, го инхибираат CYP3A4 и со тоа го подобруваат фармакокинетичкиот профил на други анти-ХИВ лекови како што се сакинавир и лопинавир.
- 24.** Стереохемиските аспекти можат да играат важна улога во интеракцијата помеѓу ксенобиотикот и метаболизирачкиот ензим (обата од перспектива на супстрат и инхибитор) и ксенобиотик-метаболизирачките ензими можат да играат клучна улога во конвертирањето на еден стереоизомер во друг, процес познат како *мутаротација* или *инверзија на конфигурацијата*. Ксенобиотикот кој содржи хирален центар може да постои во две форми наречени стереоизомери или енантиомери. Метаболизмот на некои хирални ксенобиотици се случува стереоселективно; што значи дека еден енантиомер (стереоизомер) се метаболизира побрзо од неговиот антипод. На пример, антиепилептичниот лек мефенитоин (Mesantoin®) (слика 2.6), кој е рацемска смеса на *R*- и *S*-мефенитоин, се метаболизира стереоселективно кај човекот, така што *S*-енантиомерот брзо се хидроксилира (преку CYP2C19) и се елиминира побрзо од *R*-енантиомерот. Способноста на некои хирални ксенобиотици да ги инхибираат ксенобиотик-метаболизирачките ензими може исто така да биде

стереоселективна. На пример, хинидин е потентен инхибитор на CYP2D6, додека пак хинин, неговиот антипод, има релативно мал инхибиторен ефект врз овој ензим.



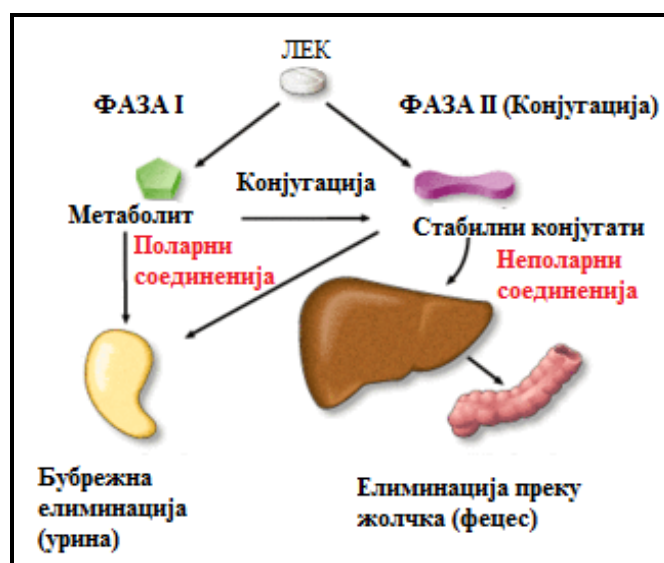
Слика 2.6. Структурна формула на антиепилептичниот лек мефенитоин

3. ФАЗА I ОД МЕТАБОЛИЗМОТ НА ЛЕКОВИ

Основната цел на метаболизмот во случај кога организмот е изложен на потенцијален ксенобиотик е да го отстрани истиот надвор од телото што е можно побрзо. Додека ова е разумна стратегија од гледна точка за опстанокот на организмот, таа претставува главна пречка за производството на ефикасен лек.

Кај вишите цицачи, огромен број на системи еволуирале за да се олесни ефикасното отстранување на ксенобиотиците меѓу кои еден голем дел претставуваат ензимите за метаболизирање на лековите. Терминот ензими за метаболизирање на лековите може да биде еден вид поедноставување, бидејќи овие ензими често се вклучени главно и во метаболизмот на ендогените соединенија. Покрај тоа, интерференцијата на овие ендогени патишта за метаболизирање и молекулите на лековите може да резултира со несакани ефекти кои може и да не бидат лесно предвидливи од основните фармаколошки својства на молекулата. Затоа, доброто разбирање на природата на ензимите кои се вклучени во метаболизмот на лековите може да биде од есенцијално значење во постигнувањето на рамнотежа помеѓу ефикасноста и безбедноста при оптимизацијата на потенцијалните нови лекови.

Метаболизмот на лекови може да биде поделен на две области, Фаза I и Фаза II (слика 3.1). Традиционално, најголемо внимание во испитувањата привлекува Фаза I од метаболизмот, а особено системот на ензими, цитохром P450. Сепак, важно е да се нагласи дека и ензимите од Фаза II, исто така, играат важна улога и во детоксикацијата и елиминацијата на лековите и дека всушност комбинацијата на двете фази помага да се добие таква ефикасна бариера за ксенобиотиците.



Слика 3.1. Фази и нивни основни карактеристики во метаболизмот на лекови

Фазата I од метаболизмот вклучува голем број на активности како што се реакции на оксидација, хидролиза и редукција. Овие реакции често се нарекуваат и функционализирачки реакции, бидејќи генерално доведуваат до воведување или откривање на клучните функционални групи (на пример $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$, итн.) во молекулите кои можат да го олеснат отстранувањето од телото, било непосредно или пак преку конјугација со поларните ко-фактори на Фаза II-метаболизирачките системи. Табела 3.1 ги прикажува главните класи на ензимите од Фаза I кои се вклучени во метаболизмот на лековите.

Табела 3.1. Тип на реакции и метаболизирачки ензими на Фаза I

Ензим	Реакции кои ги катализираат
Цитохром P450 (CYP)	Оксидација, редукција
Моноамино оксидази (MAO)	Оксидација
Флавин-монооксигенази (FMO)	Оксидација
Алкохол дехидрогеназа	Оксидација
Алдехид дехидрогеназа	Оксидација (редукција)
Ксантин оксидази	Оксидација
Епоксид хидролаза	Хидролиза
Карбоксилестерази	Хидролиза
Пептидази	Хидролиза
Карбонил редуктаза	Редукција

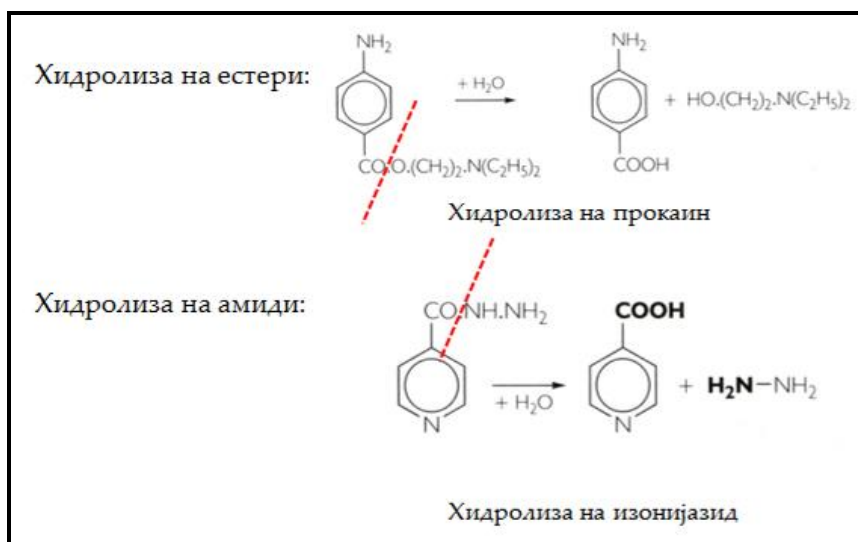
3.1. Хидролиза

Кај цицачите се присутни различни ензими кои ги хидролизираат лековите и другите ксенобиотици кои содржат некои од функционалните групи како што се:

- естри на карбоксилни киселини (делаприл и прокаин),
- амидна група (прокаинамид),
- тиестерна група (спиронолактон),
- естер на фосфорна киселина (параоксон),
- киселинска анхидридна група (диизопропил-флуорофосфат, DFP) и
- лактон (спиронолактон).

Типични реакции на хидролиза се прикажани на слика 3.2. Главните хидролитички ензими од оваа група се **карбоксилестеразите, холинестеразите и параоксоназите** (за кои името лактонази е посеопфатно), но во никој случај не значи дека тие се единствените хидролитички ензими вклучени во метаболизмот на ксенобиотици. Во оваа група на ензими спаѓаат и **епоксид хидролазите** и **пептидазите**.

Првите две важни класи на хидролитички ензими, карбоксилестеразите и холинестеразите се познати како серин-естерази, бидејќи нивниот каталитички дел од молекулата содржи нуклеофилни остатоци на серин кои учествуваат во хидролизата на различни ксенобиотски или ендобиотски супстрати. Врз основа на големиот број на потенцијални серин хидролази, не е изненадувачки дека и други ензими различни од оние опишани во ова поглавје, можат да земат учество во метаболизмот на ксенобиотиците. За алдехид дехидрогеназите, карбоанхидразите, карбокси-пептидазите, липазите, протеазите, па дури и за албуминот е покажано дека имаат хидролитичка (естеразна) активност кон некои ксенобиотици.

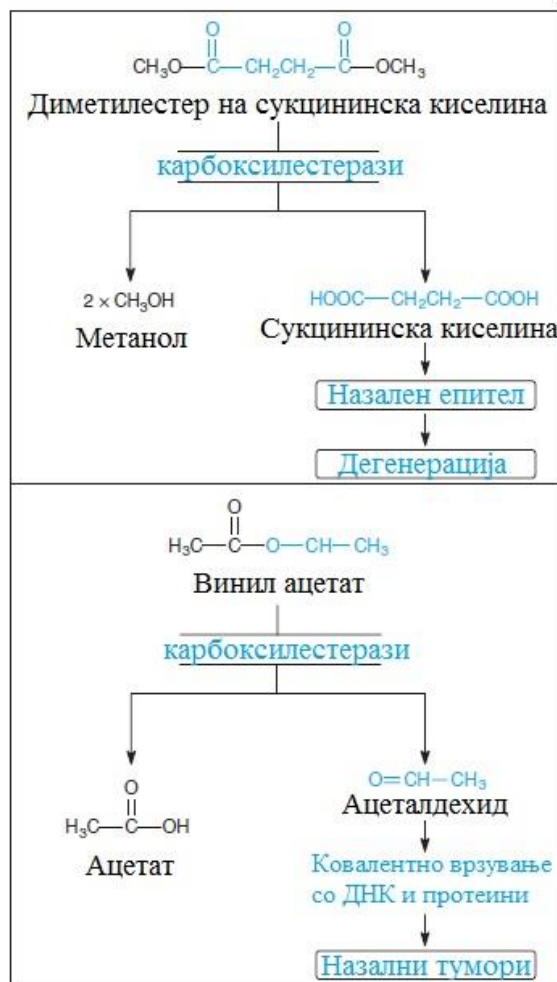


Слика 3.2. Реакции на хидролиза

Карбоксилестеразите присутни во серумот, црниот дроб, тенкото црево и другите ткива, како и холинестеразите во крвта (и мускулите во зависност од патот на експозиција на ксенобиотикот), заедно ги детерминираат времетраењето и местото на дејствување на одредени лекови.

На пример, лекот прокаиин, естер на карбоксилна киселина – брзо се хидролизира, поради што овој лек се користи главно за локална анестезија. Спротивно на ова, прокаионамид, амиден аналог на прокаиинот, се хидролизира многу побавно; па затоа, овој лек стигнува до системската циркулација, каде е корисен во третманот на срцева аритмија. Во принцип, ензимската хидролиза на амидите се случува побавно отколку кај естрите, иако и други фактори можат да влијаат на брзината на хидролиза.

Хидролизата на ксенобиотиците преку карбоксилестерази и другите хидролитички ензими не секогаш е процес на детоксикација. Слика 3.3 покажува некои примери во кои карбоксилестеразите може да ги конвертираат ксенобиотиците до токсични туморогени метаболити.



Слика 3.3. Активирање на ксенобиотиците до токсични и туморогени метаболити преку карбоксилестерази

3.1.1. Карбоксилестерази (CE)

Карбоксилестеразите сочинуваат семејството на ензими кои се способни да хидролизираат различни лекови и други ксенобиотици кои содржат киселински, амидни или тиестерни функционални групи.

Тие се гликопротеини со молекулска маса ~60 kDa кои се присутни во различни ткива и во серумот. Најголемиот дел од карбоксилестеразната активност во црниот дроб е поврзана со ендоплазматскиот ретикулум, иако значајна активност на карбоксилестеразите е присутна и во лизозомите и во цитозолот. Хидролизата на ксенобиотиците естри и амиди кај човекот во голема мера се катализира од само две карбоксилестерази **hCE1** и **hCE2**. hCE1 се детектира во многу високи нивоа во црниот дроб, проследено со трахеата и белите дробови, додека втората човекова карбоксилестераза, hCE2, се експресира до приближно ист степен во црниот дроб и во тенкото црево, проследено со колонот и бубрезите. Кај различните видови цицачи, карбоксилестеразите се наоѓаат и во плазмата, додека човековата плазма не содржи карбоксилестерази, што значи дека за хидролизата на ксенобиотиците кои содржат естерни и амидни групи во плазмата се одговорни други ензими.

Кај стаорците, хидролазите А и В најверојатно се двојници на hCE1 и hCE2, соодветно. hCE1 генерално ја катализира хидролизата на ксенобиотиците со мала алкохолна група која се отстранува, додека hCE2 генерално ја катализира

хидролизата на ксенобиотиците со мала киселинска или голема алкохолна група која се отстранува (како во случајот на прокаин), иако постојат и ксенобиотици кои се хидролизираат и од двата ензима. hCE1 е поактивен од hCE2 во катализа на хидролизата на бројни лекови како оселтамвир, беназаприл, цилазеприл како и транс-естерификацијата на метил естрите на кокаин, додека hCE2 е поактивен од hCE1 во хидролизирањето на аспирин, хероин, кокаин-бензоил естер, 6-ацетилморфин, оксibuтинин и антиканцерниот лек иринотекан.

Опишани се генетски полиморфизми (полиморфизми на единечен нуклеотид или SNP) за hCE2, од кои како краен ефект кај некои од нив настанува намалување на брзината на хидролиза на лекот иринотекан. Генетски полиморфизми исто така се опишани и за hCE1, но тие имаат помала веројатност да му наштетат на целокупниот hCE1, бидејќи овој ензим се кодира од два гена. Затоа, вистина е дека фенотип CM за hCE1 ќе произлезе само ако генетските полиморфизми ги афектираат двата алели на гените кои го кодираат овој ензим. Опишан е и фенотип за hCE1 кој може да се класифицира како екстензивен метаболизатор.

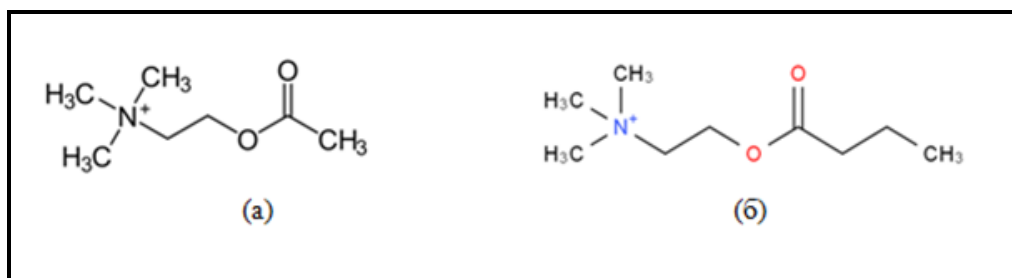
Во прилог на хидролизирањето на ксенобиотиците, карбоксилестеразите хидролизираат и различни ендогени соединенија, како што се палмитоил-CoA, моноацилглицерол, диацилглицерол, ретинил естер, тромбоцит-активирачкиот фактор и други естерифицирани липиди.

Одредени CE исто така имаат физиолошки функции во укотвувањето на други протеини за ендоплазматскиот ретикулум. На пример, лизозомалниот ензим β – глукуронидаза исто така е присутен во ендоплазматскиот ретикулум, каде тој е закотвен во луменот преку егасин, микрозомална карбоксилестераза поврзана со hCE1. Врзувањето на оргонофосфорните соединенија за егасин предизвикува ослободување на β –глукуронидазата во плазмата, што служи како основа за тестот за изложеност на оргонофосфорни соединенија.

3.1.2. Холинестерази (AChE и BChE)

Ацетилхолинестеразата (AChE) и бутирилхолинестеразата (BChE, исто така позната како псеудохолинестераза) се слични ензими. Како што кажуваат имињата, AChE и BChE имаат висока активност кон ацетилхолин и бутирилхолин, соодветно (слика 3.4). BChE исто така може да ги хидролизира хлоропропан, кокаин, метилпреднизолон ацетат, хероин, изосорбид диаспиримат, мивакуриум, прокаин, сукцинилхолин, тетракаин и други лекови. Алкалоидот езерин е инхибитор и на двата ензими.

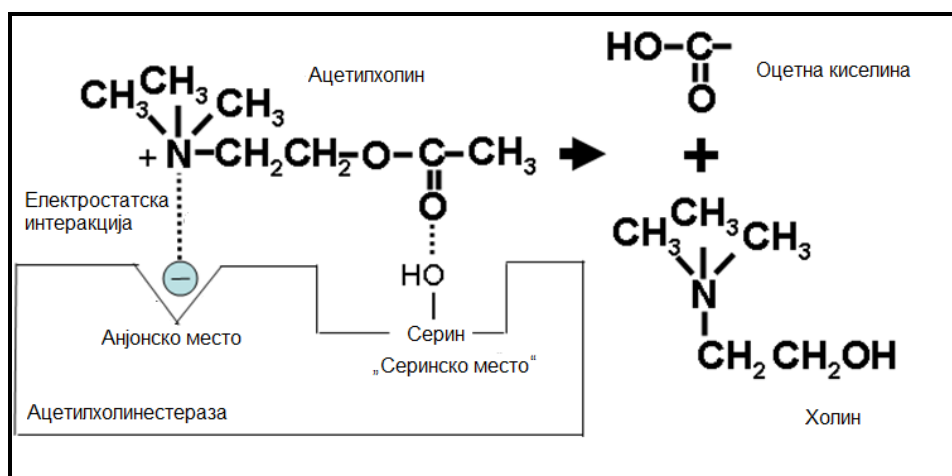
Лекови кои селективно ја инхибираат мозочната AChE и BChE активност, како ривастигмин (Exelon®), се користат во третманот на Алцхајмерова болест.



Слика 3.4. Структурни формули на (а) ацетилхолин и (б) бутирилхолин

Обата ензими се наоѓаат во шест различни форми со различна растворливост: мономер (G1), димер (G2), тетрамер (G4), опашести тетрамери (A4), двојни тетрамери (A8) и тројни тетрамери (A12). Сите овие форми се експресираат во мускулите. Во случајот на AChE, главна форма во мозокот е тетрамерот G4, но главна форма во ентероцитите е димерот G2.

Кај обата ензими, AChE и BChE, естерското место (кое го содржи активниот дел од серинскиот остаток) е прикачено за анјонско (негативно наелектризирано) место кое стапува во интеракција со позитивно наелектризираниот азот на ацетилхолинот и бутирилхолинот (слика 3.5).



Слика 3.5. Интеракција помеѓу ацетилхолин и AChE

Генетски варијанти на AChE што сериозно ја нарушуваат активноста не се откриени, што е важен факт со оглед на клучната улога која AChE ја има во прекинување на невротрансмисијата преку ацетилхолин.

Опишани се најмалку 10 генетски варијанти на BChE како продолжение на испитувањата по откривањето на фенотипот на CM за сукцинилхолин. Сукцинилхолинот е лек мускулен релаксант чие времетраење и дејство се детерминирани од активноста на серумската BChE. Кај некои индивидуи (~ 2 % од белата раса), сукцинилхолинот при апликација предизвикува пролонгирана мускулна релаксација и апнеа, што довело до откривање на генетската варијанта на BChE (Asp70 → Gly70). Иако овој алелоензим има значајно намалена активност кон сукцинилхолинот (што е генетската основа за претераниот одговор кон овој мускулен релаксант кај засегнатите индивидуи), сепак истиот сè уште има значајна активност кон други супстрати како ацетилхолин и бензоилхолин. Откритието на BChE алелоензимот (т.н. атипична псеудохолинестераза) е од историски интерес бидејќи вовело ново поле во фармакогенетиката.

Карбоксилестеразите во крвта и ткивата играат важна улога во лимитирање на количеството на органофосфорни соединенија кои достигнуваат до AChE во мозокот, чијашто инхибиција е всушност механизмот на токсичност на органофосфорните пестициди (и карбаматни инсектициди). Губењето на 70 – 90 % од активноста на AChE е смртоносно за цицачи, инсекти и нематоди. Бројни студии покажале инверзна врска помеѓу серин-естеразната активност и чувствителноста кон токсичниот ефект на органофосфорните соединенија. Факторите кои ја намалуваат серин-естеразната активност го потенцираат токсичниот ефект на органофосфорните соединенија, додека фактори кои ја зголемуваат серин-естеразната активност имаат заштитен ефект од органофосфорните соединенија.

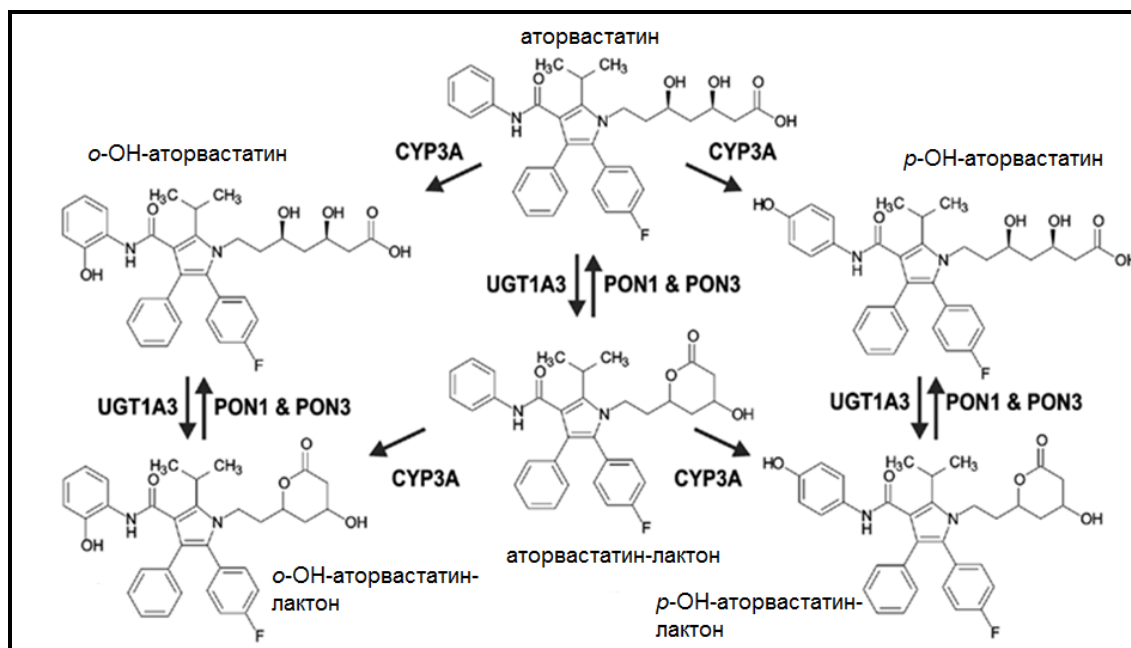
3.1.3. Параоксонази (Лактонази)

Параоксоназите ја катализираат хидролизата на широк спектар на органофосфати, органофосфити, естри на ароматични карбоксилни киселини, циклични карбонати и лактони (важни претставници од оваа класа на соединенија се лековите од групата на статини). Тие се калциум-зависни ензими кои содржат

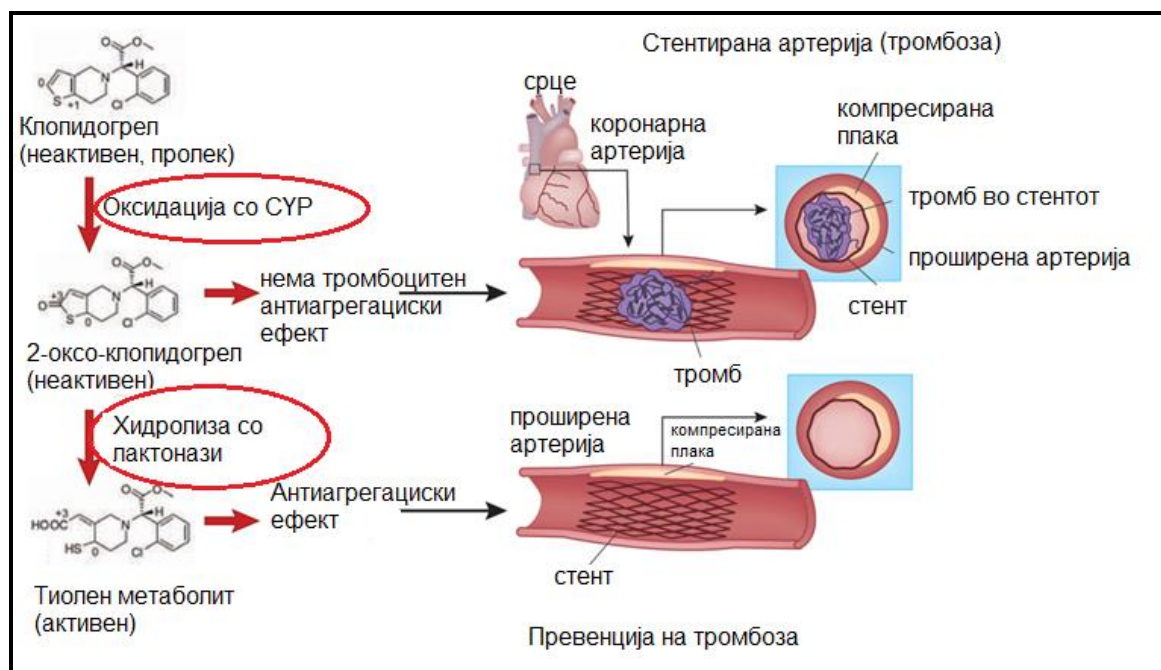
критична сулфхидрилна (–SH) група и се инхибираат од EDTA, метални јони (Cu^{2+} и Ba^{2+}) и различни соединенија на жива.

Човекот експресира три вида на параоксонази означени како **hPON1**, **hPON2**, и **hPON3**. hPON1 е присутна во микрозомите на црниот дроб и плазмата, каде се асоцира исклучиво со липопротеинот со висока густина (HDL). hPON2 не е присутен во плазмата, но се експресира во неколку други ткива. hPON3 се експресира во серумот и микрозомите на црниот дроб и бубрезите. Само hPON1 има значителна арилестеразна активност и способност да ги хидролизира токсичните оксо-метаболити на органофосфорните инсектициди како што се паратион, диазинон и хлорпирифос. Сепак, сите три ензими можат да ја катализираат хидролизата на различни лактони, од која причина исто така се употребува и името „лактонази“.

Пример за лек чијшто метаболизам се катализира од страна на hPON1 и hPON3 е прикажан на слика 3.6. Пример за лек којшто се активира во реакција катализирана од PON1 е антиромбоцитниот агрегант, клопидогрел (слика 3.7). Постојат докази кои укажуваат на тоа дека hPON1 штити од атеросклероза преку хидролизирање на специфичните деривати на оксидираниот холестерол и/или фосфолипидите во атеросклеротичните лезии и оксидираните липопротеини со мала густина (LDL). На пример, експериментални глувци со недостаток на PON1 (нокаут-глувци или PON1-null глувци) имаат предиспозиција за развој на атерогенеза.



Слика 3.6. Метаболизмот на аторвастатин (исто така и други лекови од оваа група) се катализира од PON ензимите

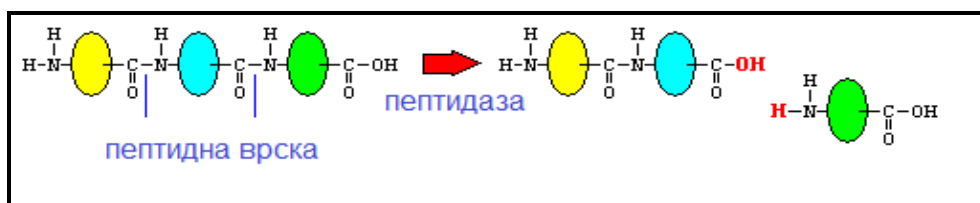


Слика 3.7. Метаболизам на лекот клопидогрел катализиран од PON1

3.1.4. Пептидази

Со напредокот на рекомбинантната ДНК технологија, бројни човечки пептиди интензивно се испитуваат за употреба како терапевтски агенси и во моментот клинички се користат повеќе рекомбинантни пептидни хормони, фактори на раст, цитокини, растворливи рецептори и хуманизирани моноклонални антитела. За да се избегне киселинската преципитација и протеолитичката деградација во гастроинтестиналниот тракт, пептидите се администрираат парентерално.

Сепак, пептидите се хидролизирани во крвта и ткивата од различни ензими пептидази, вклучувајќи ги аминопептидазите, карбоксипептидазите (кои ги хидролизирани аминокиселините на N- и C-краевите, соодветно) и ендопептидазите (кои ги расцепуваат пептидите на специфични делови). Пептидазите ја раскинуваат амидната врска помеѓу соседните аминокиселини, па оттука, тие функционираат како амидази (слика 3.8). Како и во случајот на карбоксилестеразите, активното место на пептидазите содржи или серински или цистеински остаток кој иницира нуклеофилан напад на карбонилниот дел од амидната (пептидната) врска.

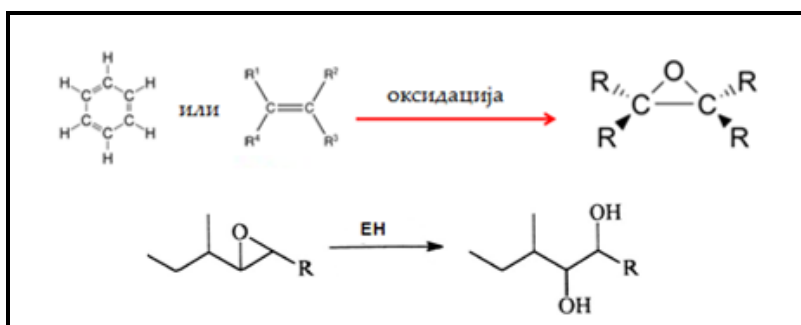


Слика 3.8. Реакција на раскинување на пептидна врска катализирана од пептидаза

3.1.5. Епоксид хидролази (EH)

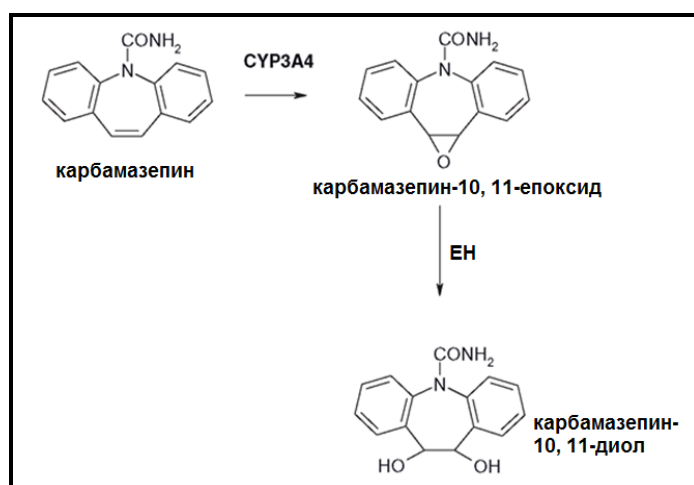
Епоксид хидролазите ја катализираат конверзијата на епоксидите до диоли преку адисија на вода (слика 3.9). Овие потенцијално токсични електрофилни

епоксиди често се формираат во организмот како резултат на реакции на оксидација на алкени и ароматични јаглеродороди од страна на CYP ензимите. ЕН играат значајна улога во детоксикацијата на електрофилните епоксиди кои инаку можат да се врзат за протеините и нуклеинските киселини и да предизвикаат клеточна токсичност и/или генетски мутации. ЕН може брзо да ги конвертираат овие потенцијално токсични метаболити до соодветни дихидродиоли, кои се помалку реактивни и полесно се екскретираат. Поради ова, ЕН се сметаат за група на ензими која врши детоксикација. Во некои случаи, сепак, понатамошна оксидација на дихидродиолите може да доведе до формирање на диолепоксидни деривати кои повеќе не се супстрат на ЕН, бидејќи оксидираниот прстен е заштитен со волуминозни супституенти кои просторно ја попречуваат интеракцијата со ензимот. Важноста на оваа улога на овие ензими се состои во широката дистрибуција на ЕН низ телото на начин кој е во тесна врска со онаа на CYP ензимите. Слично на ова, многу познати индуктори на CYP ензимите исто така можат да предизвикаат и индукција на ЕН.



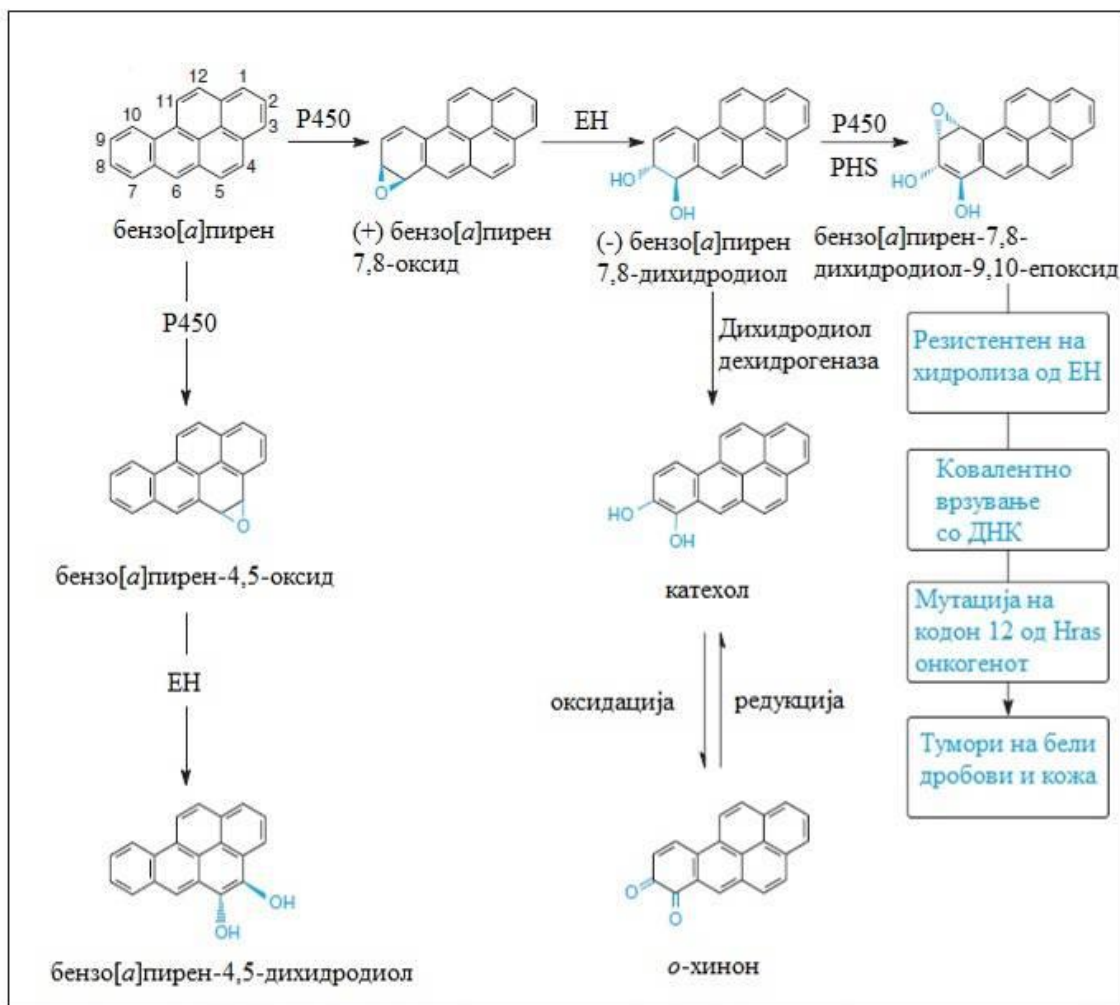
Слика 3.9. Конверзија на епоксиди до диоли преку адиција на вода во реакција катализирана од ЕН

Хидролизата на епоксидите од страна на ЕН се остварува со одделување на протон од молекулата на вода за да се формира нуклеофилен хидроксиден јон кој тогаш напаѓа еден од јаглеродните атоми на епоксидот. Супстрати за ЕН се епоксидните метаболити на карбамазепин и некои полициклични ароматични јаглеродороди. Главниот метаболит на карбамазепин е епоксид, кој е толку стабилен што карбамазепин 10,11-епоксид е главен циркулирачки метаболит кај пациентите третирани со овој антиепилептичен лек. Метаболизмот на карбамазепин катализиран од ЕН е илустриран на слика 3.10.



Слика 3.10. Метаболизам на карбамазепин катализиран од страна на епоксид хидролаза

Туморогените полициклични ароматични јаглеводороди, како што е бензо[а]пирен, се конвертираат преку цитохром Р450 до различни арен-оксиди кои ковалентно се поврзуваат со ДНК, што ги прави високо мутагени за бактериите. Еден од главните арен оксиди формирани од бензо[а]пирен, имено, 4,5-оксид, е високо мутаген за бактериите, но слабо мутаген за клетките на цицачите. Оваа разлика се јавува поради брзата инаktivација на бензо[а]пирен-4,5-оксид од страна на ЕН во клетките на цицачите. Сепак, еден од арен оксидите формиран од бензо[а]пирен, имено, бензо[а]пирен-7,8-дихидродиол-9,10-епоксид, не е супстрат за ЕН и е високо мутаген и за клетките на цицачите и значително многу попотентен отколку бензо[а]пирен како тумороген за бели дробови што е докажано во експерименти со експериментални глувци (слика 3.11).



Слика 3.11. Улога на епоксид хидролаза во деактивирање на бензо[а]пирен-4,5-оксид и во конверзија на бензо[а]пирен до негов тумороген диолепоксид

Како што е покажано на слика 3.11, бензо[а]пирен-7,8-дихидродиол-9,10-епоксид се формира во три чекори: бензо[а]пирен се конвертира до 7,8-оксид, кој се конвертира до 7,8-дихидродиол кој пак се конвертира до соодветен 9,10-епоксид. Првиот и третиот чекор се реакции на епоксидација катализирани од цитохром Р450 или простагландин Н синтазата, но вториот чекор се катализира преку ЕН. Како резултат на ова, иако ЕН игра главна улога во детоксикацијата на неколку бензо[а]пирен оксиди, како што е 4,5-оксидот, таа сепак има улога и во конвертирање на бензо[а]пирен до неговиот терминален тумороген метаболит, бензо[а]пирен-7,8-дихидродиол-9,10-епоксид.

3.2. Редукција

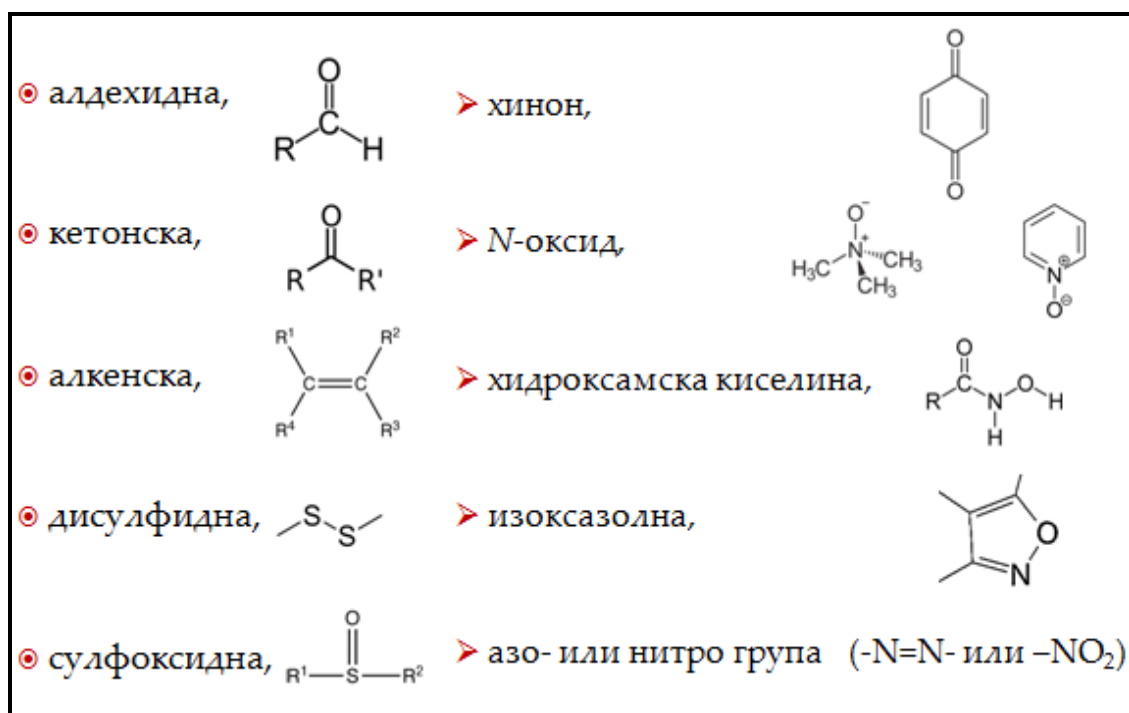
Одредени метали (на пример, арсен (V)) и ксенобиотици кои содржат алдехидна, кетонска, алкенска, дисулфидна, сулфоксидна, хинон, *N*-оксид, хидроксамска киселина, изоксазол, азо- или нитро група честопати се редуцираат *in vivo*, иако понекогаш е тешко да се утврди дали реакцијата се одвива ензимски или неензимски преку интеракција со редукциони агенси (како што се редуцираните форми на глутатион, FAD, FMN, и NAD[P]).

Некои од горенаведените функционални групи (прикажани на слика 3.12) можат да се редуцираат или оксидираат. На пример, алдехидите ($R-CHO$), можат да бидат редуцирани до алкохоли ($R-CH_2OH$) или оксидирани до карбоксилни киселини ($R-COOH$), додека сулфоксидите (R_1-SO-R_2) можат да се редуцираат до сулфид (R_1-S-R_2) или оксидираат до сулфон ($R_1-SO_2-R_2$) (слика 3.13).

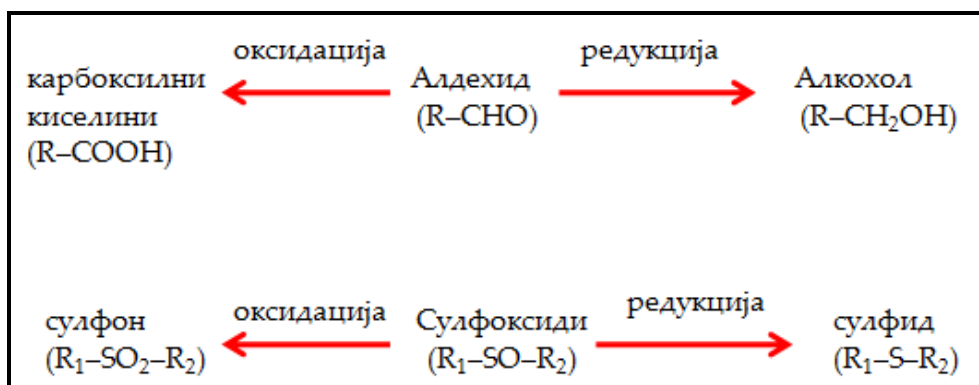
Исто така, некои ензими, како што се алкохол дехидрогеназа, алдехид оксидаза, и цитохром P450 можат да катализираат и редукциони и оксидациони реакции во зависност од супстратот или условите.

Во случај на халогенираните јаглеводороди, како лекот халотан, дехалогенацијата може да следи преку оксидативна или редукциона патека, обата начини се катализирани од ист ензим (имено, цитохром P450). Во некои случаи, како азо-редукција, нитро-редукција и редукција на одредени алкени, реакцијата на редукција во голема мера се катализира од интестиналната микрофлора.

Најчести реакции на редукција при метаболизмот на лекови во организмот се: азо- и нитро-редукција, карбонилна редукција и редукција на хинони.



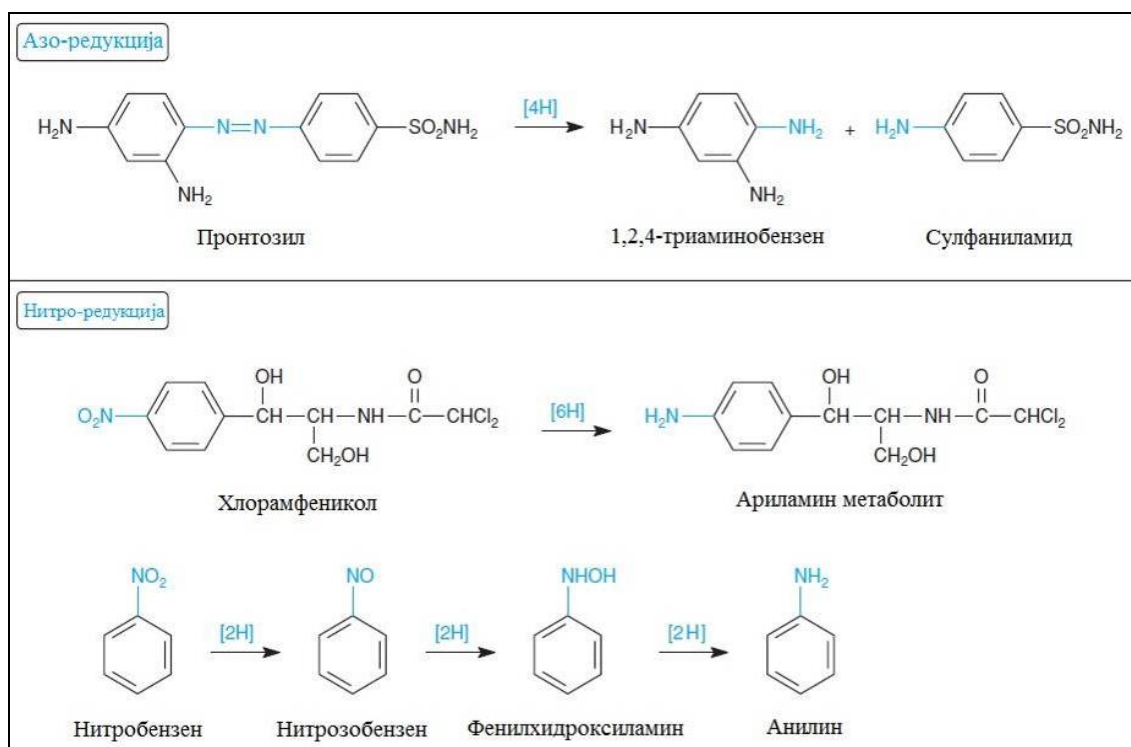
Слика 3.12. Функционални групи кои може да се редуцираат во *in vivo* услови



Слика 3.13. Реакции на оксидација/редукција на алдехиди и сулфоксиди

3.2.1. Азо- и нитро-редукција

Пронтозил и хлорамфеникол се примери за лекови кои подлежат на азо- и нитро-редукција, соодветно, како што е покажано на слика 3.14. Редукцијата на пронтозил е од историски интерес. Третманот на стрептококни и пневмококни инфекции со пронтозил го означил почетокот на специфичната антибактериска хемотерапија. Потоа, откриено е дека активниот лек не е пронтозил (пролек) туку неговиот метаболит, сулфаниламид (пара-аминобензен сулфонамид), всушност продукт на реакција на азо-редукција. Во текот на азо-редукцијата, N=N двојната врска последователно се редуцира и раскинува за да се продуцираат два примарни амини, реакција која има потреба од четири редуцирачки еквиваленти. Нитро-редукцијата има потреба од шест редуцирачки еквиваленти, кои се консумираат во три последователни реакции, како што е случај со конверзијата на нитробензен до анилин (слика 3.14).



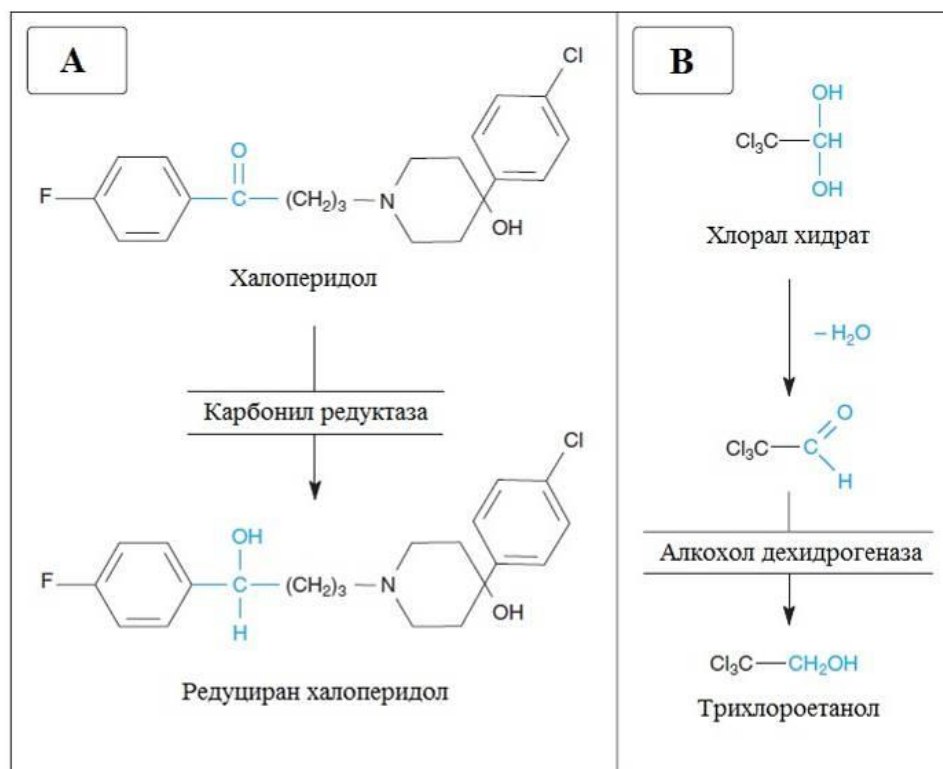
Слика 3.14. Примери за лекови кои подлежат на азо-редукција (пронтозил) и нитро-редукција (хлорамфеникол и нитробензен)

Азо- и нитро-редукционите реакции генерално се катализираат преку интестиналната микрофлора, сепак, под одредени услови (како низок притисок на кислород), реакциите можат да се катализираат и од хепаталните микрозомални ензими цитохром P450 и NAD(P)H-хинон оксидоредуктаза (NQO1, цитозолен флавопротеин кој е исто така познат и како DT-дијафораза), а во случајот на нитроароматичните соединенија, преку цитозолниот ензим алдехид оксидаза.

3.2.2. Карбонилна редукција

Различни ксенобиотици содржат карбонилна функционална група ($R-CHO$ и R_1-CO-R_2) која подлежи на редукција *in vivo* (слика 3.15). Редукцијата на алдехидите до примарни алкохоли и редукцијата на кетоните до секундарни алкохоли кај цицачите генерално се катализира преку NAD(P)H-зависни редуктази кои припаѓаат кон една од двете суперфамилии, алдо-кето редуктази (AKR) и дехидрогенази/редуктази.

Кај човекот се содржат околу 39 ензими од оваа фамилија, од кои два, имено, цитозолната и микрозомалната карбонил редуктаза, имаат најголема улога во редукцијата на широк спектар на ксенобиотици кои содржат карбонилна група. Во одредени случаи, редукцијата на алдехидите до алкохоли може да се катализира и преку алкохол дехидрогеназата (како што е покажано на слика 3.15 за конверзијата на седативот-хипнотик, хлорал хидрат до трихлоретанол). Алкохол дехидрогеназите припаѓаат на суперфамилијата дехидрогенази/редуктази. Тие обично ги конвертираат алкохолите до алдехиди, поради што се опишани подоцна во делот за оксидативни реакции (види во делот „Алкохол дехидрогенази“).



Слика 3.15. Редукција на ксенобиотици преку карбонил редуктаза (A) и алкохол дехидрогеназа (B)

Генетските полиморфизми на овие ензими не покажале дека имаат влијание врз диспозицијата и безбедноста на лековите кои содржат карбонилна група и исто така нема извештаи за лек-лек интеракции кои вклучуваат инхибиција или индукција на истите.

3.2.3. Редукција на хинони (ензими NQO1 и NQO2)

Хиноните се редуцираат до хидрохинони преку два тесно поврзани, цитозолни ензими, флавопротеини, имено, NQO1 и NQO2.

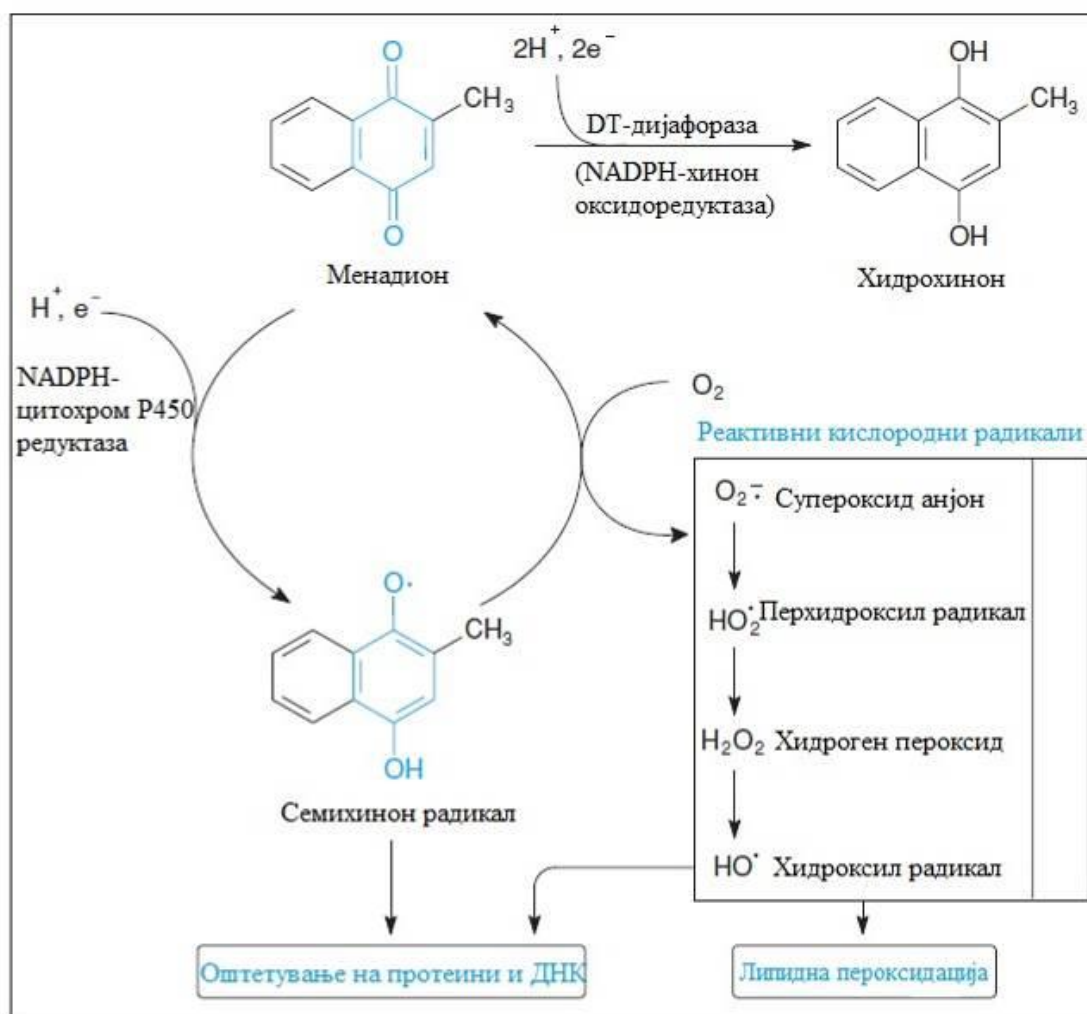
Првиот ензим, NAD(P)H-хинон оксидоредуктаза-1, е исто така познат и како DT-дијафораза. Вториот ензим, NAD(P)H-хинон оксидоредуктаза-2, е исто познат и како NRH-хинон оксидоредуктаза бидејќи тој го преферира невообичаениот донор на електрони дихидроникотинамид рибозид (NMR) повеќе отколку NAD(P)H. Иако ова се тесно поврзани ензими (обата содржат две субединици од 27 kDa, секоја со FAD протетична група), NQO1 и NQO2 имаат различни супстратни специфичности и тие можат да се разликуваат врз база на нивната диференцијална инхибиција од дикумарол и кверцетин (кои се селективни инхибитори на NQO1 и NQO2, соодветно). NQO2 ензимот може да има и физиолошка улога во организмот и тоа во метаболизмот на витамин К (хидрохинон).

Пример за тип на реакција која се катализира преку NQO1 е прикажан на слика 3.16. Формирањето на хидрохинон вклучува дво-електронска редукција на хинонот со стехиометриска оксидација на NAD[P]H без потрошувачка на кислород (кај човекот дво-електронската редукција на одредени хинони може да се катализира и преку карбонил редуктаза). Спротивно на тоа, NADPH-цитохром P450-редуктазата, микрозомален флавопротеин, катализира едно-електронска редукција на хинони до семихинонски радикали кои, како дополнување на тоа што се реактивни метаболити сами по себе, предизвикуваат и оксидативен стрес преку реакција со кислород до формирање на реактивни кислородни радикали (ROS), што пак води до нестехиометриска оксидација на NADPH и потрошувачка на кислород (како што е прикажано на слика 3.16).

Дво-електронската редукција на хиноните е нетоксична реакција (која не е поврзана со формирањето на семихинони и оксидативен стрес) во случај ако добиениот хидрохинон е доволно стабилен за да подлежи на реакции на глукуронидација и сулфо-конјугација. Сепак, постојат ксенобиотици кои содржат хинон во својата структура и кои и покрај подложувањето на дво-електронска редукција преку NQO1, продуцираат семихинонски слободни радикали, оксидативен стрес, оштетување на ДНК и цитотоксичност. Многу од овие ксенобиотици се развиени како антиканцерни лекови, бидејќи ензимот NQO1 честопати е пре-експресиран кај туморските клетки. Особините на хидрохинонот детерминираат дали, во текот на метаболизмот на ксенобиотиците кои содржат хинон, NQO1 ќе функционира како протективен антиоксиданс или како про-оксиданс активатор што води до формирање на ROS и реактивни семихинонски радикали.

Антиканцерните лекови или лековите-кандидати во тек на истражување, кои се активираат преку NQO1 до активни соединенија, ги вклучуваат азиридинилбензо-хинонот диазиквон, антрахинонот митоксантрон, индолхиноните митомицин С и EO9 (аналог на митомицин С кој побрзо се редуцира преку NQO1) и антрациклинските антибиотици даунорубицин и доксорубицин. Овие т.н. биоредуктивни алкилирачки агенси се редуцираат преку NQO1 за да генерираат семихинонски слободни радикали и други реактивни интермедиери кои подлежат на нуклеофилно соединување со ДНК, што резултира со кинење на единечниот синџир на ДНК. Причината поради која таквите лекови се првенствено токсични за туморските клетки е дека овие клетки, особено оние во солидните тумори, се хипоксични, а хипоксијата пак индуцира синтеза на NQO1. Затоа, туморските клетки често експресираат високи нивоа на NQO1, што ги предиспонира кон токсичните ефекти на хинон-редуктивните антиканцерни лекови како што е митомицин С. Се чини дека оксидативниот стрес е важна компонента во механизмот на токсичност на неколку ксенобиотици кои содржат хинон или можат да бидат метаболизирани до хинони. Продукцијата на супероксидни анјонски радикали и

оксидативниот стрес се одговорни, барем делумно, за кардиотоксичните ефекти на доксорубицин (адриамицин) и даунорубицин (дауномицин), пулмонарната токсичност на паракват и нитрофурантоин и невротоксичните ефекти на 6-хидроксидопамин. Оксидативниот стрес исто така игра важна улога и во деструкцијата на бета-клетките на панкреасот од страна на алоксан и диалурична киселина. Ткивата кои имаат ниска супероксид дисмутазна активност, како што е срцето, се особено чувствителни кон оксидативен стрес асоциран со редокс циклусот на хиноните. Ова придонесува за кардиотоксичните ефекти на адриамициноот и сличните на него антиканцерни лекови, иако постојат и други фактори како причина за оваа чувствителност.



Слика 3.16. Дво-електронска редукција на менадион до хидрохинон и продукција на реактивни кислородни радикали во текот на едно-електронската редукција до семихинон радикал

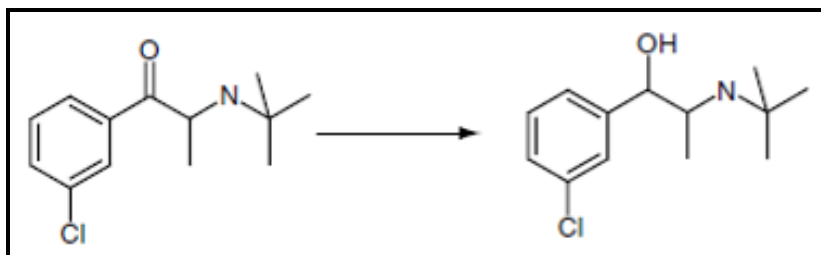
Meѓу индукторите кои очигледно го зголемуваат нивото на NQO1 е сулфорафан, компонента во брокулата која може да биде одговорна за антиканцерогените ефекти на ова зелјесто растение. Изотиоцијанатите (кои се исто така присутни во висока концентрација во зелјестите зеленчуци) веројатно ги покажуваат своите хемопревентивни ефекти во голема мера токму преку индукција на детоксирачките ензими, имено, глутатион трансфераза (GSTA1), митохондриска епоксид хидролаза, алдо-кето редуктаза (AKR7A, исто така позната како афлатоксин алдехид редуктаза), NAD(P)H-хинон оксидоредуктаза (NQO1, DT-дијафараза), глутамат-цистеин лигаза (GCL) како и на гените вклучени во апоптозата.

NQO1 и NQO2 се полиморфно експресирани ензими и постојат докази кои сугерираат дека NQO1 и/или NQO2 играат клучна улога во заштитата на коскената срцевина од хематотоксичните ефекти на бензен или други ксенобиотици од околината. Кај луѓето, висок процент на пациенти со миелоидна и други типови на леукемија се хомо- или хетерозиготни за *null* мутантниот алел на NQO1. Овој полиморфизам, NQO1*2 (SNP со замена на Pro₁₈₇ со Ser₁₈₇), го дестабилизира протеинот и го насочува за брза деградација преку убихинон протеазомалната патека. Експериментални глвци со недостаток на NQO1 се значително почувствителни отколку „дивиот“ тип на глвци кон бензен-индуцирана хематотоксичност. Хематотоксичноста на бензен се смета дека вклучува конверзија на бензенот до хидрохинон во црниот дроб и последователна оксидација на бензохинонот преку миелопероксидазите во коскената срцевина.

3.2.4. Карбонил редуктази

Карбонил редуктазите се ензими кои ги редуцираат алдехидите и кетоните до примарни и секундарни алкохоли. Овие ензими имаат потреба од NADPH како кофактор (за разлика од ADH и ALDH). Типични лекови-супстрати се кетоните многу почесто од алдехидите, бидејќи многу малку терапевтски агенси содржат алдехидна група поради нејзината реактивна природа.

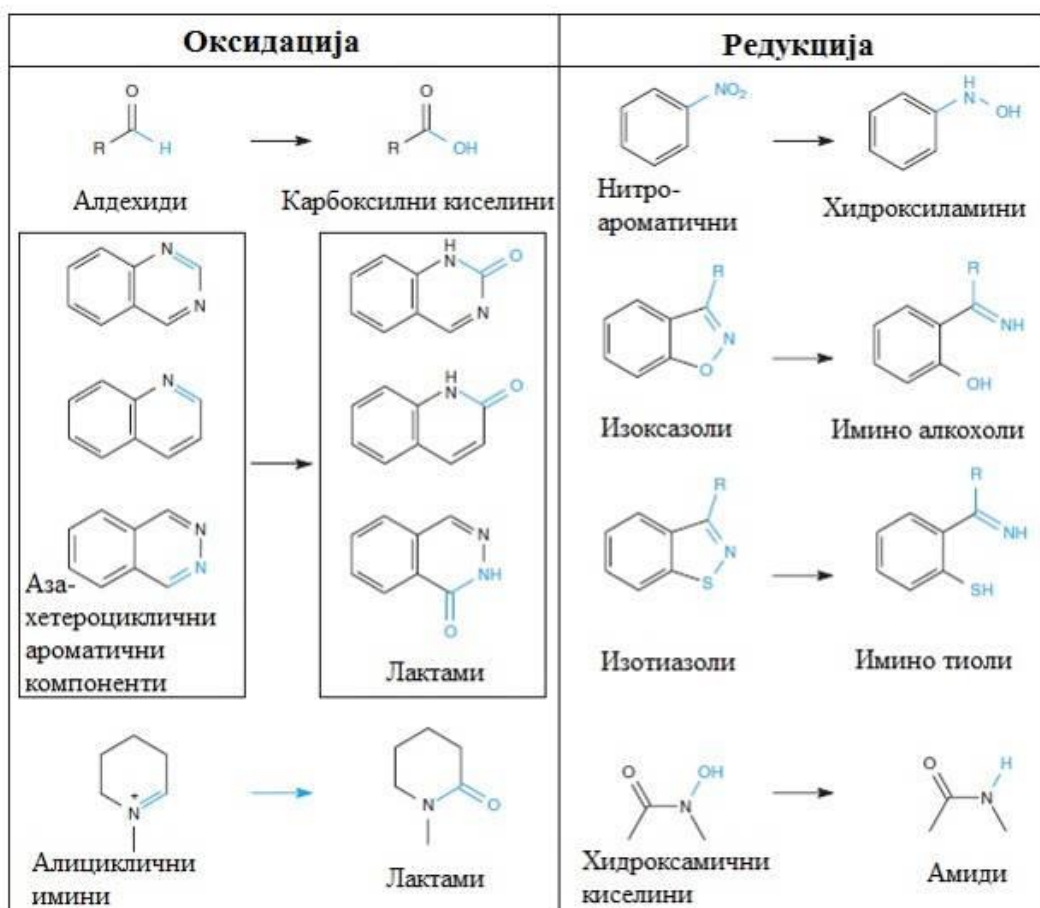
Голем број на лекови, како халоперидол, даунорубин, варфарин, пентоксифилин, менадион и нафимидон се метаболизираат од страна на овие ензими. Главниот циркулирачки метаболит на антипсихотичниот лек халоперидол е секундарен алкохол формиран во реакција катализирана од карбонил редуктазите во крвта и црниот дроб, како што е покажано на слика 3.15 претходно. Лекот бупропион се редуцира до еритро-бупропион исто така во реакција катализирана од оваа класа на ензими (слика 3.17), иако овој лек може да се метаболизира и до други активни метаболити во реакција катализирана од цитохромните ензими.



Слика 3.17. Метаболизам на бупропион од страна на карбонил редуктаза

3.2.5. Алдехид оксидаза – Редуктивни реакции

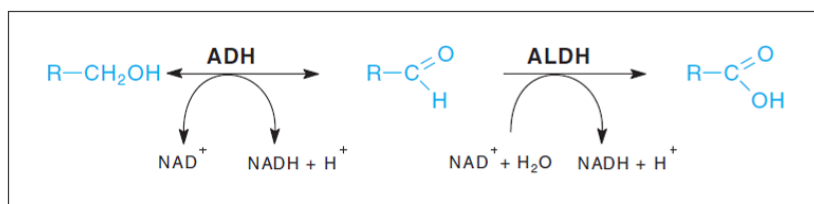
Алдехид оксидазата е цитозолен молибдо-ензим кој ја катализира оксидацијата на некои ксенобиотици и редукцијата на други. Типовите на оксидативни и редукциони реакции катализирани преку алдехид оксидаза се покажани на слика 3.18. За разлика од големиот број на лекови за кои е познато дека (или постои сомневање дека) се оксидираат преку алдехид оксидазата *in vivo*, само за неколку лекови е познато дека (или постои сомневање дека) се редуцираат преку алдехид оксидазата *in vivo*, вклучувајќи ги нитрофуразон, зонисамид и зипрасидон.



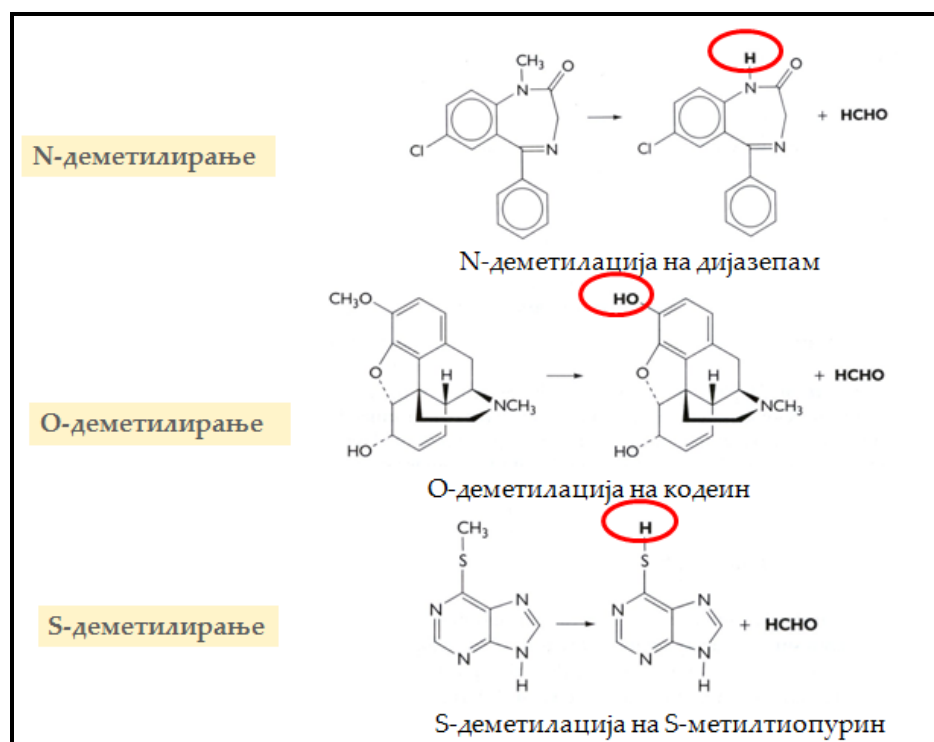
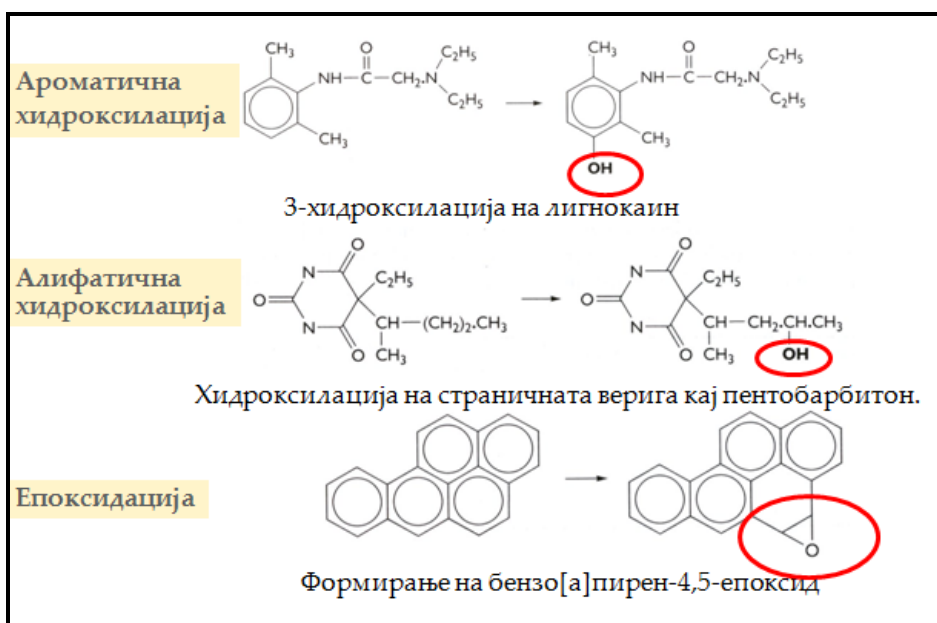
Слика 3.18. Примери за реакции на оксидација и редукција катализирани од алдехид оксидаза

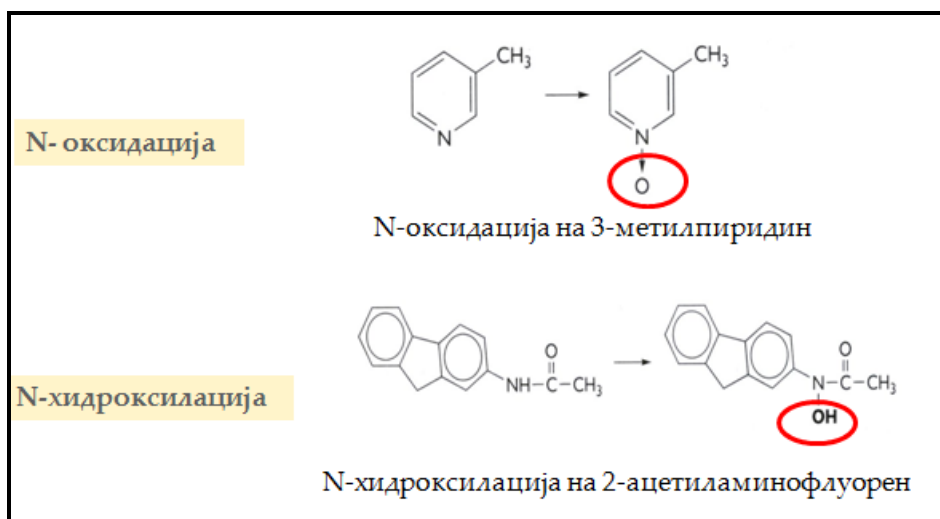
3.3. Оксидација

Алкохолите, алдехидите и кетоните се оксидираат од страна на бројни ензими, вклучувајќи ги: алкохол дехидрогеназа, алдехид дехидрогеназа, ензими кои содржат молибден – алдехид оксидаза и ксантин дехидрогеназа/оксидаза, моноаминооксидази (MAO), како и цитохром P450. На пример, нижите алкохоли (како метанол и етанол) се оксидираат до алдехиди (имено, формалдехид и ацеталдехид) преку алкохол дехидрогеназата. Овие алдехиди понатаму се оксидираат до карбоксилни киселини (мравја и оцетна киселина) преку алдехид дехидрогеназата, како што е покажано на слика 3.19. Многу од гореспоменатите ензими можат исто така да катализираат и реакции на редукција на ксенобиотиците (како што е наведено и во претходниот дел „Редукција“). Различните типови на реакции на оксидација на лековите (и други ксенобиотици) кои се катализираат од гореспоменатите ензими, преку соодветен пример, се прикажани на слика 3.20.



Слика 3.19. Оксидација на алкохоли до алдехиди и карбоксилни киселини преку алкохол (ADH) дехидрогеназа и алдехид дехидрогеназа (ALDH)

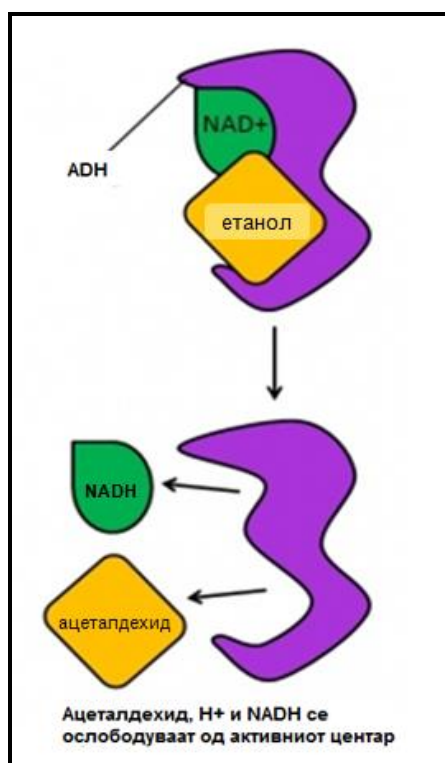




Слика 3.20. Различни типови на реакции на оксидација на лекови

3.3.1. Алкохол дехидрогеназа (ADH) и алдехид дехидрогеназа (ALDH)

ADH и ALDH се цитозолни ензими кои содржат цинк и ги конвертираат алкохолите до алдехиди (со дејство на ADH) и алдехидните производи последователно до карбоксилни киселини (со ALDH) (слика 3.19). И ADH и ALDH се наоѓаат главно во црниот дроб, но исто така се наоѓаат и во бубрезите, белите дробови и гастроинтестиналниот тракт и имаат потреба од присуство на NAD^+ како ко-фактор. Принципот на реакцијата е прикажан на слика 3.21.



Слика 3.21. Принцип на реакција на метаболизам на етанол

Кај луѓето постојат повеќе изоформи на ADH кодирани од страна на седум различни ADH гени, затоа ADH-азите кај човекот се категоризирани во пет класи (I–V). Класа I се состои од три ензими: ADH1A, кој содржи најмалку една алфа субединица ($\alpha\alpha$, $\alpha\beta$, или $\alpha\gamma$), ADH1B, кој содржи барем една бета субединица ($\beta\beta$ или $\beta\gamma$), и ADH1C, кој содржи две гама субединици ($\gamma\gamma$). Класа II го вклучува ADH4, кој е составен од две пи субединици ($\pi\pi$). Класа III го вклучува ADH5, кој е составен од две кси подединици ($\chi\chi$). Класа IV го вклучува ADH7, кој е составен од две ми ($\mu\mu$) или сигма подединици ($\sigma\sigma$). Класа V го вклучува ADH6 (за кој не постои ознака за субединиците).

Класа I ADH изоензимите (ADH1A или α -ADH, ADH1B или β -ADH и ADH1C или γ -ADH) се одговорни за оксидацијата на етанол и други мали, алифатични алкохоли и тие силно се инхибираат од пиразол и неговите 4-алкил деривати (на пример, 4-метил пиразол). Високи нивоа на класа I ADH изоензими се експресираат во црниот дроб и надбубрежните жлезди, а пониски нивоа има во бубрезите, белите дробови, крвните садови (во случајот на ADH1B) и други ткива, но не и во мозокот.

Класа II ензимот ADH4 (π -ADH) примарно се експресира во црниот дроб (со пониски нивоа во желудникот), каде тој првенствено оксидира големи алифатични и ароматични алкохоли. ADH4 се разликува од ADH1 изоензимите по тоа што има мала или воопшто нема улога во оксидацијата на етанол и метанол како и по тоа што не се инхибира од пиразол.

Класа III ензимот ADH5 (χ -ADH) првенствено оксидира алкохоли со долг ланец (пентанол и подолги) и ароматични алкохоли (како цинамил алкохол). Како и ADH4, ADH5 не се инхибира од пиразол. Сепак, за разлика од ADH4, кој е во голема мера ограничен во црниот дроб, ADH5 е присутен во речиси сите ткива (вклучувајќи го и мозокот), каде веројатно игра важна улога во детоксикацијата на формалдехид. Всушност, ADH5 и формалдехид дехидрогеназата се идентични ензими.

Класа IV ензимот ADH7 (μ -или σ -ADH) е ензим со низок афинитет (висока K_m) и висок капацитет (висока V_{max}) и е најактивен од сите ADH-ази во оксидацијата на ретинол. Тој е главниот ADH кој се експресира во желудникот и други делови на ГИТ (хранопровод, гингива, уста и јазик). За разлика од другите ADH-ази, ADH7 не се експресира во црниот дроб кај возрасни.

Класата I ADH изоензими се разликуваат во нивната способност да го оксидираат етанолот и дури покажуваат и расна варијабилност. Дури и алелоензимите, кои се разликуваат по само една аминокиселина, имаат значително различен афинитет (K_m) и/или капацитет (V_{max}) за оксидација на етанолот до ацеталдехид. ADH1B*2 е познат како атипична ADH и е одговорен за невообичаено брзата конверзија на етанол до ацеталдехид кај 90 % од Азијците (Јапонци, Кинези, Корејци). Оваа атипична ADH се експресира во многу помал степен кај белата раса (< 5 % од Американците, ~ 8 % од Англичаните, ~ 12 % од Германците и ~ 20 % од Швајцарците), кај Афро-Американците (< 10 %) и кај Индијанците (0 %) и Индијците (0 %). Овие разлики во експресијата на ADH1B алелоензимот меѓу популацијата придонесуваат за расните разлики при консумирањето на алкохол и неговата токсичност.

Но, ADH1 не само што го оксидира етанолот до ацеталдехид, туку исто така и го редуцира ацеталдехидот назад до етанол. Ацеталдехидот е значително потоксичен отколку етанолот или оцетната киселина; оттука, нивото на ацеталдехид во крвта е важна детерминанта за толерантноста кон алкохол (опишано е во делот за ALDH). Во споредба со хепаталната ADH, гастричната ADH има помал афинитет (повисока K_m) но повисок капацитет (поголема V_{max}) за оксидирање на етанолот; кај хепаталната ADH доминираат класа I ADH изоензимите (ADH1A, -1B, и 1C), а кај гастричната ADH класа IV ензимот ADH7. Иако етанолот во голема мера се метаболизира преку хепаталната

ADH1, гастричната ADH7 сепак може да ја ограничи системската биорасположливост на етанол. Неколку често користени лекови (на пример, циметидин, ранитидин, аспирин) се некомпетитивни инхибитори на гастричната ADH7. Под одредени околности овие лекови ја зголемуваат системската расположливост на етанол, иако ефектот е премногу мал за да има сериозни медицински, социјални или правни последици.

Кај околу 30 % од Азијците веројатно постои генетски недостаток на класа IV ADH7, главната гастрична ADH. Како дополнително кон метаболизирањето на етанол и ретинол, класа IV ADH7 исто така врши и детоксикација на канцерогената хемикалија со потекло од храната, нитробензалдехид. Се смета дека недостатокот на ензими од класа IV ADH7 кај Јапонците може да ја наруши нивната способност да го детоксицираат нитробензалдехидот и може да биде поврзана со високата стапка на појава на рак на желудник забележана кај јапонската популација.

Неколку ALDH ензими се вклучени во оксидацијата на ксенобиотиците со алдехидна структура. Идентификувани се најмалку 19 ALDH гени кај луѓето и соодветно голем број на ALDH гени присутни и кај другите видови цицачи. Постојат докази за генетски полиморфизам на ALDH2 кај човекот. Висок процент (45–53 %) од Јапонците, Кинезите, Корејците, Тајванците и Виетнамците имаат дефицитарна ALDH2 активност што се должи на точката мутација ($\text{Glu}_{487} \rightarrow \text{Lys}_{487}$). Оваа неактивна алелна варијанта на ALDH2 е позната како ALDH2*2. Оваа иста популација исто така има висока инциденца на атипичната форма и на ADH (т.е. ADH2*2), што значи дека тие многу брзо го конвертираат етанолот во ацеталдехид, но бавно го конвертираат ацеталдехидот во оцетна киселина (тие исто така имаат и релативно висока преваленца за намалена активност на класа IV ADH, што го нарушува и гастричниот метаболизам на етанолот). Како резултат на ова, многу Азијци доживуваат синдром на „жарење на лицето“ (flushing syndrome) по консумирањето на алкохол што се должи на брзото создавање на ацеталдехид кој предизвикува дилатација на крвните садови на лицето преку ослободување на катехоламини. Американските домородци (Индијанци) исто така доживуваат ваков синдром по консумирање на алкохол, очигледно поради тоа што тие експресираат друга алелна варијанта на ALDH2 и/или бидејќи е нарушена оксидацијата на ацеталдехид во крвните садови кај овие индивидуи, што најверојатно се должи на експресијата на варијантна форма на ALDH1A1.

Функционалните генетски варијанти на ADH кои брзо го конвертираат етанолот до ацеталдехид (т.е. ADH2*2) и генетските варијанти на ALDH кои бавно го детоксицираат ацеталдехидот помагаат за заштита од прекумерно пиење алкохол и развој на алкохолизам. Инхибицијата на ALDH преку лекот дисулфирам (Antabuse, Anticol) предизвикува акумулација на ацеталдехид кај хронични алкохоличари. Ефектот на гадење кој го предизвикува ацеталдехидот служи за тие да се одвратат од постојаната консумација на етанол. Сепак, важно е да се забележи дека предиспозицијата кон алкохолизам не е едноставно детерминирана преку фактори кои влијаат на фармакокинетиката на етанолот и неговите метаболити. Испитувања кај човечки субјекти и глодари ги вклучуваат и серотонин 1b рецепторот, допамин D2 рецепторот, триптофан хидроксилазата и неврнопептидот Y како кандидати за генетска пречувствителност на фармаколошките дејства на етанолот.

Генетските недостатоци кај другите ALDH-ази го нарушуваат метаболизмот на други алдехиди, што е главната основа и на одредени болести. На пример, дефицитот на ALDH4A1 го нарушува метаболизмот на аминокиселината пролин и предизвикува тип II хиперпролинемија, чии симптоми вклучуваат ментална ретардација и конвулзии. Различни точкати и други мутации на ALDH3A2 генот предизвикуваат дефицитарност на активниот ензим кој учествува во детоксикацијата на масните алдехиди, со што се нарушува метаболизмот на мембранските липиди и е главна база за Сјогрен-Ларсон синдромот, чии симптоми вклучуваат ихтиоза, невролошки проблеми и олигофренија.

Токсиколошките последици на наследната (т.е. генетска) или стекнатата (на пример, лек-индуцирана) дефицитарност на ALDH покажуваат дека алдехидите се повеќе цитотоксични отколку соодветниот алкохол. Ова особено е точно за алил алкохолот ($\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{OH}$), кој под дејство на ADH се конвертира до високо хепатотоксичниот алдехид акролеин ($\text{CH}_2=\text{CHCHO}$).

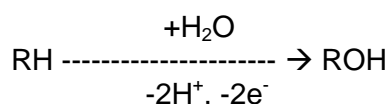
Оксидацијата на етанол преку ADH и ALDH води до формирање на оцетна киселина, која брзо се оксидира до јаглерод диоксид и вода. Сепак, во одредени случаи, алкохолите се конвертираат и до токсични карбоксилни киселини, како што се случаите на метанол и етилен гликол, кои се конвертираат преку алдехидните интермедиери до мравја киселина и оксална киселина, соодветно. Мравјата и оксалната киселина се значително потоксични од оцетната киселина.

ADH и ALDH не се широко вклучени во метаболизмот на лекови. Антивирусниот агенс абакавир е пример на соединение кое се метаболизира преку овие ензими.

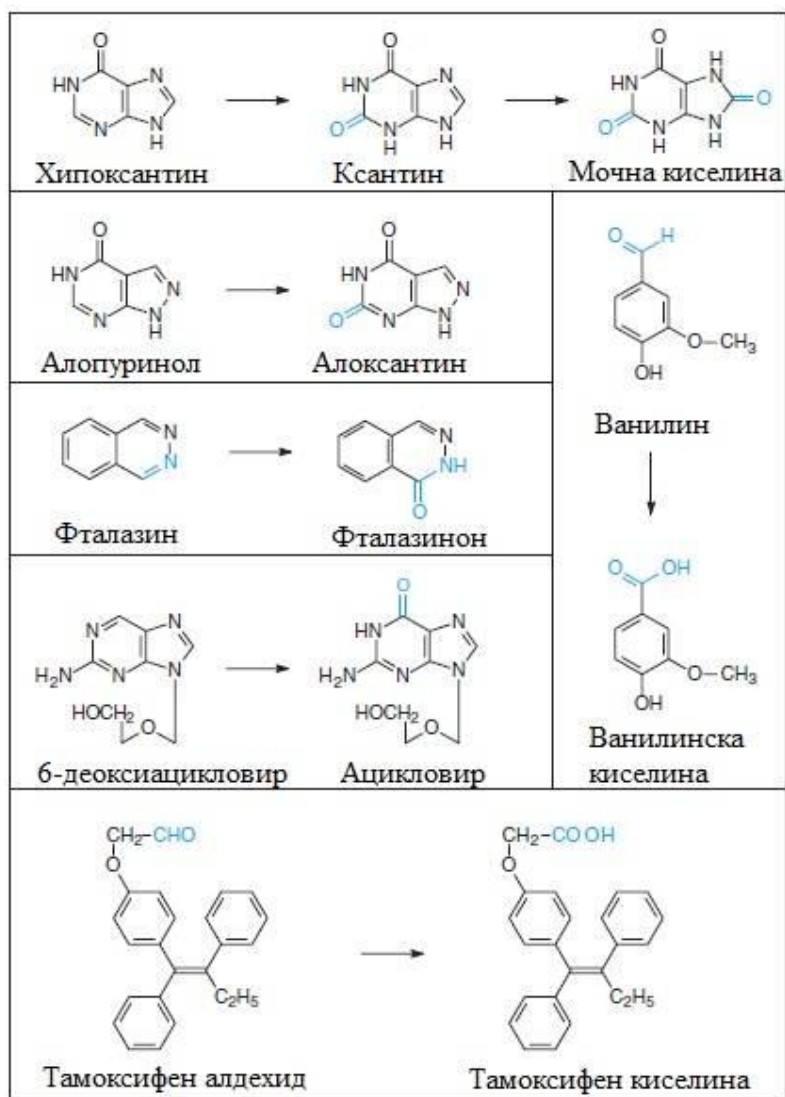
3.3.2. Молибден хидроксилази (Молибдозими)

Постојат две главни молибден хидроксилази или молибдозими кои учествуваат во биотрансформацијата на ксенобиотиците: алдехид оксидаза и ксантин оксидаза (исто така позната и како ксантин оксидоредуктаза).

Молибдозимите се флавопротеински ензими составени од две идентични ~150 kDa субединици, од кои секоја содржи FAD, молибден во форма на птерин-молибден кофактор ($[\text{Mo}^{\text{VI}}(=\text{S})(=\text{O})]^{2+}$) и два железо-сулфурни (Fe_2S_2) центри (означени како FeS I и FeS II). Каталитичкиот циклус вклучува интеракција помеѓу молибденскиот центар со редуцирачкиот супстрат, што резултира со редукција на молибденскиот кофактор, по што редуцирачките еквиваленти се пренесуваат интрамолекуларно до флавиноот и железо-сулфурните центри, при што се случува реоксидација преку флавинската група од страна на молекуларниот кислород (во случајот и на алдехид оксидаза и на ксантин оксидаза). Целокупната реакција е како што следи:



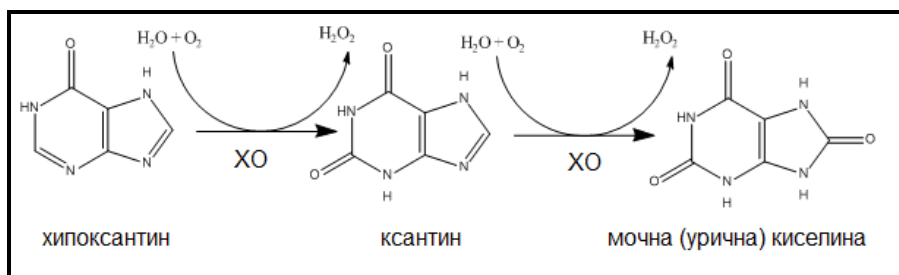
Како што кажува името, алдехид оксидазата може да конвертира одредени алдехиди до соодветни карбоксилни киселини, особина која ја има и ксантин оксидазата, но со помала активност. Одредени ароматични алдехиди, како што се тамоксифен алдехидот и бензалдехидот, се „добри“ супстрати за овие ензими, додека алифатичните алдехиди се „лоши“ супстрати. Како резултат на ова, алдехид оксидазата и ксантин оксидазата имаат занемарлив придонес во метаболизмот на ацеталдехидот. Некои реакции кои се катализираат од овие два ензими се покажани на слика 3.22. Под одредени услови, обата ензими исто така катализираат и реакции на редукција на ксенобиотиците.



Слика 3.22. Примери за реакции кои се катализираат преку молибдозимите ксантин оксидаза и алдехид оксидаза

3.3.2.1. Ксантин оксидаза (Xanthine oxidase, XO)

ХО во физиолошки услови катализира секвенцијална оксидација на хипоксантинот до ксантин и мочна (урична) киселина (слика 3.23). Монометилираните ксантини, исто така, може да бидат супстрати на овој ензим и да се оксидираат до соодветни деривати на мочна киселина, додека диметилксантините (теофилин, теобромин) и 1,3,7-триметилксантинот (кофеин) се оксидираат преку CYP ензимите.

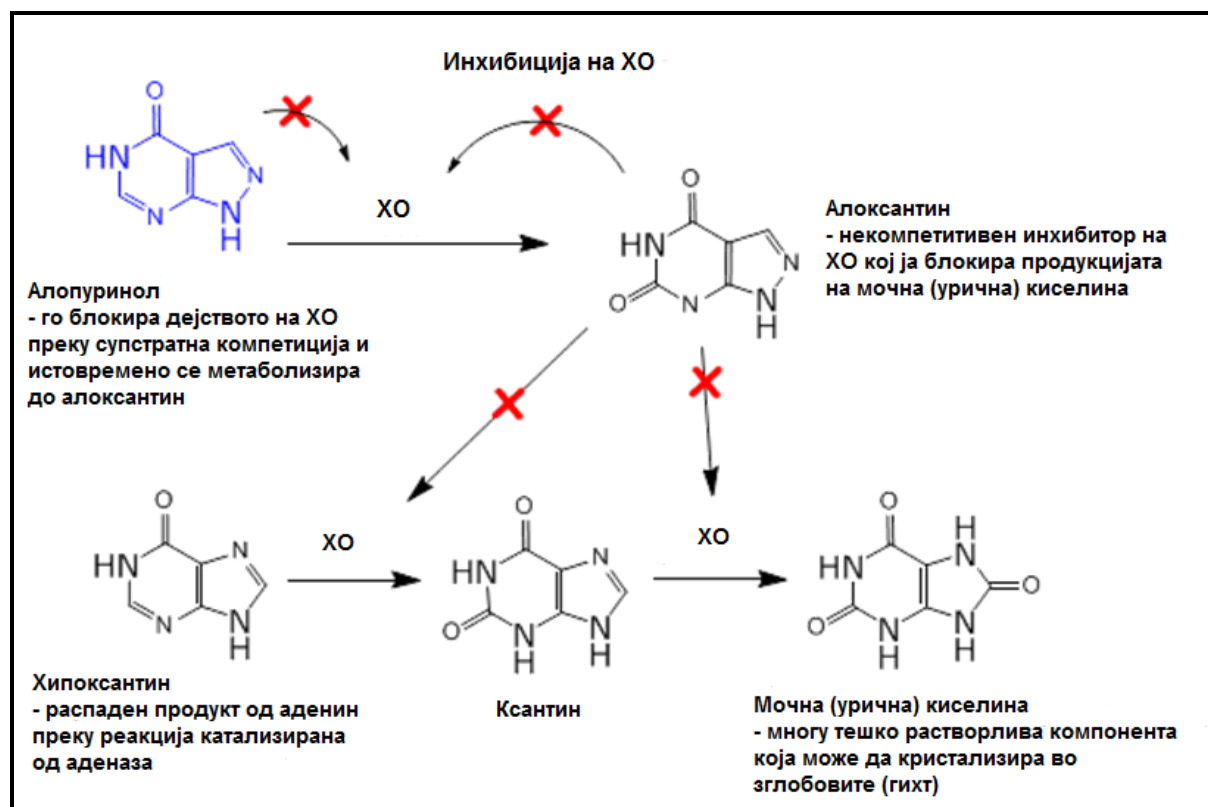


Слика 3.23. Оксидација на хипоксантин до ксантин и мочна (урична) киселина

ХО придонесува за настанување на оксидативен стрес и липидна пероксидација, бидејќи оксидазната активност на ХО вклучува редукција на молекуларниот кислород, што пак може да доведе до формирање на реактивни кислородни соединенија. ХО значајно придонесува за елиминација при прв премин на неколку пурински деривати (на пример, 6-меркаптопурин и 2,6-дитиопурин) и ги лимитира терапевтските ефекти на овие хемотерапевтски агенси.

Спротивно на ова, некои пролекови пак може да се активираат од ксантин оксидаза. На пример, антивирусните лекови 6-деоксиацикловир и 2-флуороарабино-дидеоксипурин, кои релативно добро се апсорбираат после орална администрација, се оксидираат преку ксантин оксидазата до нивните соодветни активни форми, ацикловир и 2-флуороарабино-дидеоксиинозин, кои инаку слабо се апсорбираат *per os* (слика 3.22). Исто така, ХО е вклучена и во биоактивацијата на митомицин С и слични антинеопластични лекови, иако за оваа реакција на биоактивација се мисли дека во голема мера се катализира и преку NQO1 (DT-дијафораза), како што е опишано претходно во делот „Редукција на хинони (NQO1 и NQO2)“.

Класичен инхибитор на ксантин оксидазата е алопуринол, лек кој се користи за лекување на гихт, заболување кое се должи на зголемена продукција на мочна (урична) киселина што резултира со кристални депозити на кристали на слабо растворливи киселини во зглобовите. Алопуринолот го инхибира формирањето на мочна киселина, што го прави ефикасен лек во третманот на гихт (слика 3.24).



Слика 3.24. Механизам на дејство на алопуринол

Кај луѓето, ХО е цитозолен ензим кој е широко распространет низ телото, со највисоки нивоа во срцето, мозокот, црниот дроб, скелетните мускули, панкреасот, тенкото црево, дебелото црево и плацентата. Кај луѓето, ХО се кодира од еден ген (т.е. XDH). Комплетен дефицит на ХО (што може исто така да вклучува и дефицит на алдехид оксидаза) доведува до реткото генетско пореметување - ксантиурија.

3.3.2.2. Алдехид оксидаза – Оксидациски реакции

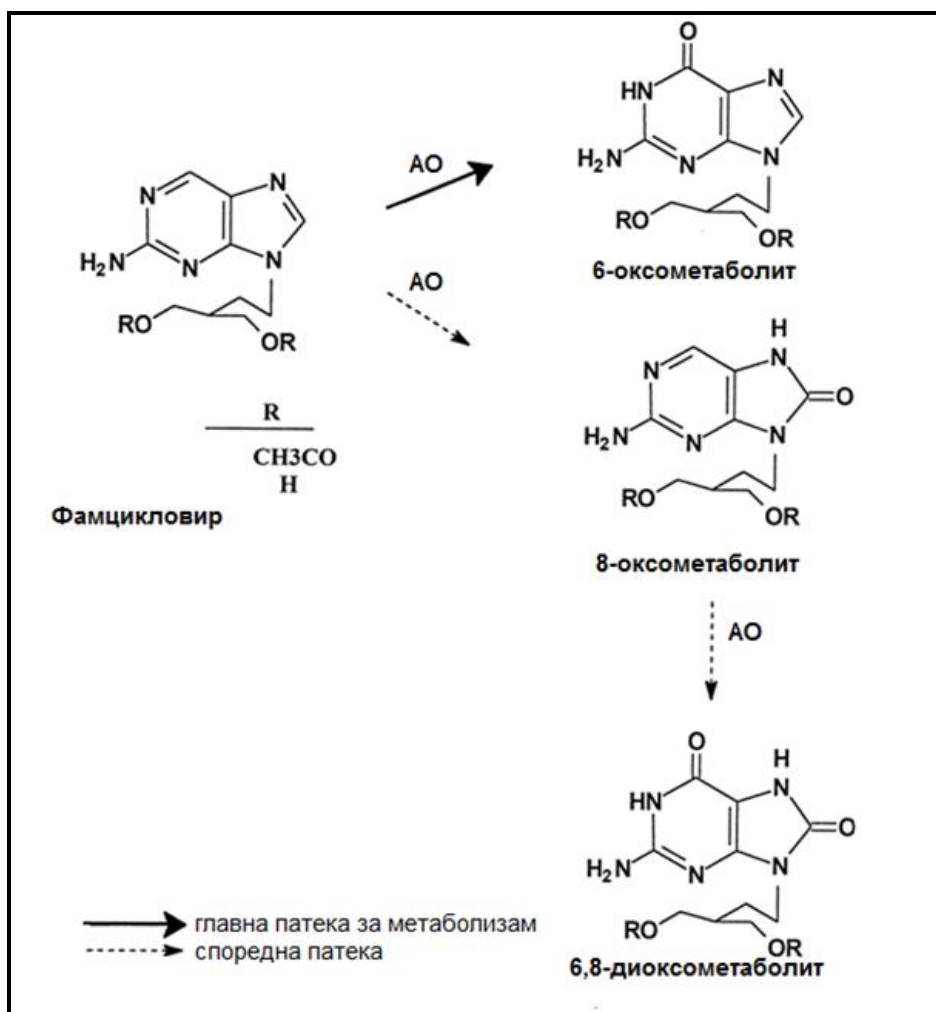
Многу од карактеристиките на ксантин оксидазата се однесуваат и на алдехид оксидазата, вклучувајќи субклеточна локација (цитозол), ензимска структура и состав на кофактор, механизам на катализа, склоност кон оксидирање на јаглеродни атоми кои се во близина на азотни атоми во азотни хетероциклуси и поголема склоност кон оксидација на ароматичните алдехиди пред алифатичните алдехиди. Овој ензим функционира како вистинска оксидаза, што значи дека прво се редуцира и потоа повторно ре-оксидира со молекуларен кислород. Сепак, кислородниот атом вграден во структурата на метаболитите потекнува од водата (не е молекуларен кислород). Понатаму, и алдехид оксидазата исто така пренесува електрони до молекуларниот кислород, што може да генерира реактивни кислородни радикали и да доведе до настанување на оксидативен стрес и липидна пероксидација. Затоа, патофизиолошките карактеристики опишани за ксантин оксидазата можат слично да се применат и за алдехид оксидазата, особено во случајот на оштетување на црниот дроб индуцирано од етанол.

Супстратите и за овој ензим вобичаено се ароматични азахетероциклични соединенија како што се супституирани пириди, пиридини, пиримидини, пурини, птеридини и иминиум јони. Оксидацијата се одвива на јаглеродот кој е електрон-дефицитарен, обично во непосредна близина на N-хетероатомот (слика 3.22). Во принцип, ксенобиотиците кои се добри супстрати за алдехид оксидаза се лоши супстрати за цитохром P450 и обратно. На пример, нафтаген (кој нема азотни атоми) се оксидира преку цитохром P450, но не и преку алдехид оксидаза, додека пак обратното е точно за птеридин (1,3,5,8-тетраазанафтаген), кој во својата молекула содржи четири атоми на азот.

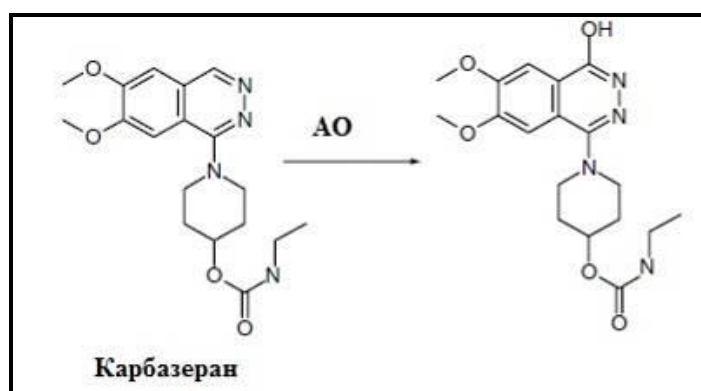
Супстратната специфичност на алдехид оксидазата се разликува помеѓу различните видови на цицачи, со големината на супстратот како главен фактор за разликите. Активното место на алдехид оксидазата кај човекот прифаќа многу помали супстрати отколку алдехид оксидазата кај зајаци или заморчиња на пример. Друга интересна разлика помеѓу видовите е дека кучињата поседуваат мала или воопшто немаат активност на алдехид оксидазата. Алдехид оксидазата изолирана од човечки црн дроб се покажала прилично нестабилна, што го отежнува *in vitro* оценувањето на разликите помеѓу видовите во однос на активноста на алдехид оксидаза при испитувања на лекови супстрати на овој ензим.

Неколку лекови се оксидираат или секвенцијално или истовремено преку цитохром P450 и алдехид оксидаза, вклучувајќи ги хинидин, азапентин, циклофосфамид, карбазепам и пролинтан. Други лекови кои се оксидираат само со алдехид оксидазата се бромонидин, циталограм, проприоналдехид, O⁶-бензилгванин, 6-меркаптопурин, хинин, пиразинамид, метотрексат, ванилин, изованилин, залеплон и фамцикловир (слика 3.22).

Антивирусната пролек-молекула фамцикловир во текот на овој тип реакција на метаболизирање, се подложува на C-6 (или поретко C-8) оксидација и естерна хидролиза до генерирање на активната антивирусна молекула, пенцикловир (слика 3.25). Фталазините како што е карбазеран, исто така се оксидираат во реакции катализирани од алдехид оксидазата (слика 3.26).



Слика 3.25. Метаболизам на антивирусниот пролек фамцикловир

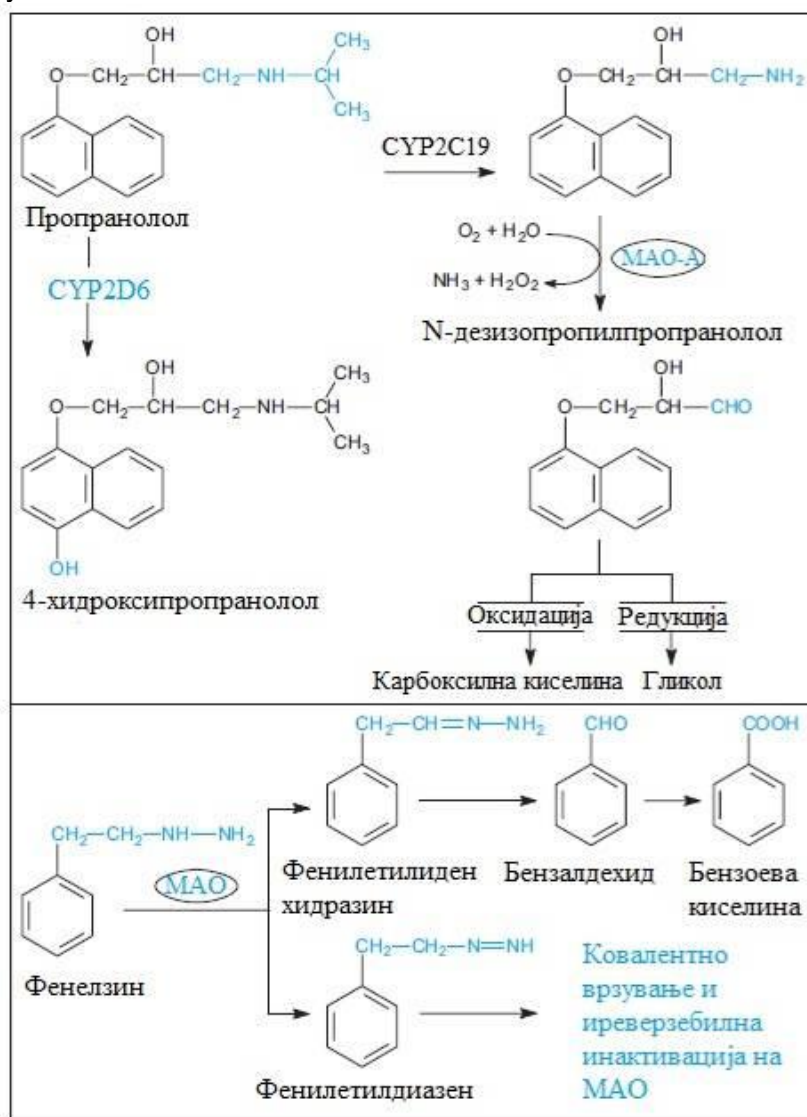


Слика 3.26. Пример за реакција на метаболизирање на карбазеран катализирана од алдехид оксидаза

3.3.3. Моноамино оксидази (MAO)

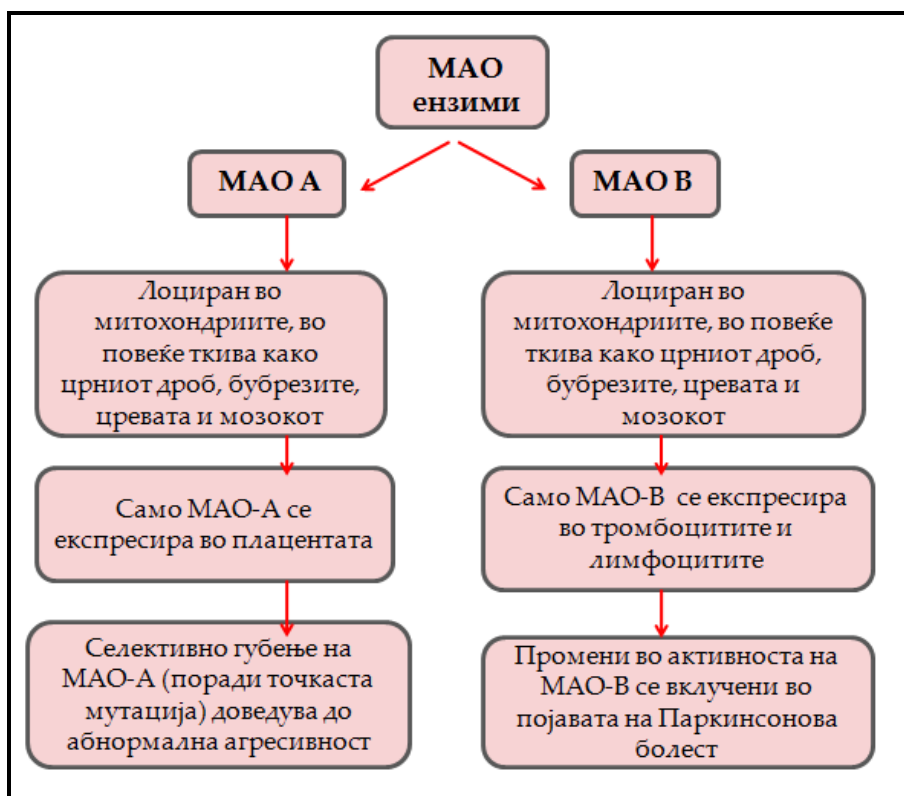
Моноамино оксидаза (MAO), диамино оксидаза (DAO) и полиамино оксидаза (PAO) се ензими вклучени во оксидативната деаминација на примарни, секундарни и терциерни амини. Супстратите за овие ензими вклучуваат неколку биоамини, како моноаминаот серотонин (5-хидрокситриптамин), диаминаот путресцин и моно-ацетилираните деривати на полиаминаите спермин и спермидин. Многу од ксенобиотиците се супстрати за овие ензими, особено за MAO ензимите.

Со оксидативната деаминација на примарните амини се продуцира амонијак и алдехид, додека оксидативната деаминација на секундарните амини продуцира примарен амин и алдехид. Алдехидите формирани со MAO обично понатаму се оксидираат со други ензими до соодветни карбоксилни киселини, иако во некои случаи тие може и да се редуцираат до алкохоли. Примери за реакции катализирани од MAO се прикажани на слика 3.27. Супстратите на MAO се подложуваат на оксидативна деаминација, но за разлика од CYP ензимите, кислородот кој се вградува во метаболитот почесто потекнува од водата. Првиот чекор на реакцијата веројатно е одземање на водород од α -јаглеродниот атом кој е во непосредна близина на азотниот атом во молекулата.



Слика 3.27. Примери на реакции катализирани од страна на моноамино оксидази (MAO)

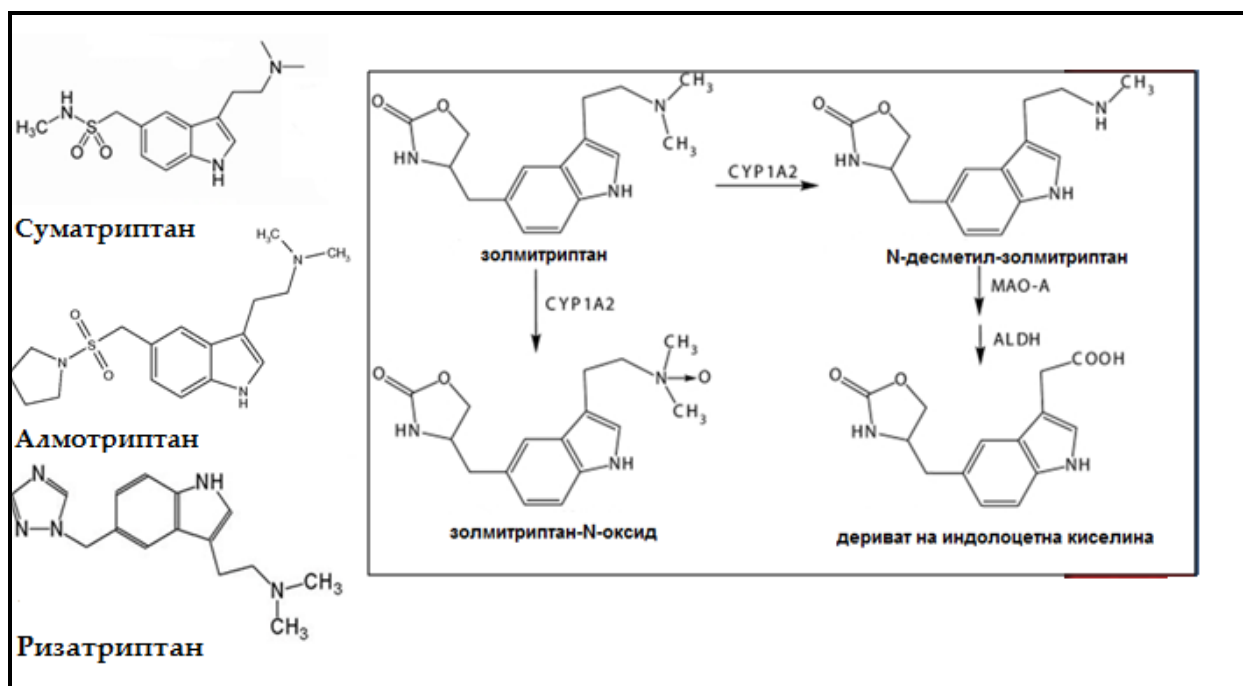
МАО ензимите се присутни кај човекот во две изоформи, МАО-А и МАО-В. Ензимот е лоциран во митохондриите и присутен во голем број на ткива како што се црниот дроб, бубрезите, цревата и мозокот. Повеќето ткива ги содржат обете форми на ензимот, секоја кодирана од различен ген, иако некои ткива експресираат само еден вид на МАО. Кај луѓето, на пример, само МАО-А се експресира во плацентата, додека само МАО-В се експресира во тромбоцитите и лимфоцитите. Овие основни карактеристики и разлики на МАО ензимите се илустрирани на слика 3.28. Селективното губење на МАО-А (поради точката мутација) доведува до појава на абнормална агресивност кај индивидуата, додека промените во активноста на МАО-В се вклучени во појавата на Паркинсонова болест.



Слика 3.28. Основни карактеристики и разлики на МАО ензимите

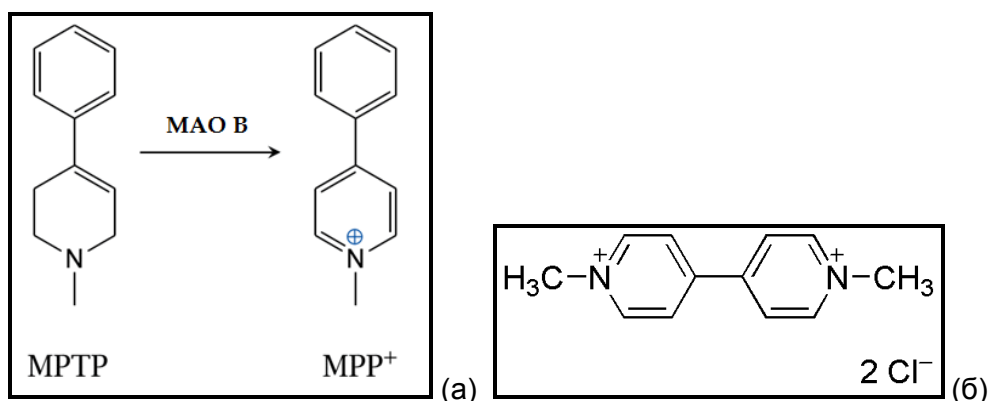
МАО-А првенствено ги оксидира милацемид (деалкилиран метаболит на пропранолол, слика 3.27), примаквин, халоперидол, доксиламин, β -фенилетиламин, тирамин, катехоламините (допамин, норепинефрин, епинефрин), триптофанските деривати (триптамин, серотонин) и аналозите на триптофан познати како триптани кои ги вклучуваат лековите против мигрена (5-НТ_{1B/1D} рецепторни агонисти) суматриптан, золмитриптан и ризатриптан (слика 3.29). Поновите соединенија од оваа класа на триптани се супституирани на α -јаглеродниот атом, што ги прави отпорни на метаболички напад од страна на МАО-А. Супстрати на МАО-В се арилалкиламините како фенилетиламин и бензиламин.

Постојат разлики помеѓу животинските видови во однос на супстратите на МАО ензимите. На пример, допамин се оксидира преку МАО-В кај луѓето, но преку МАО-А кај глупци, а пак кај неколку други видови цицачи преку обете изоформи.



Слика 3.29. Метаболизам на триптофанските аналози (триптани) катализиран од страна на MAO-A

Еден од ретките примери за супстрат на MAO-B е експерименталното соединение MPTP (1-метил-4-фенил-1,2,5,6-тетрахиdropиридин) (слика 3.30 (а)) кое под дејство на ензимот се активира во соединението MPP⁺ коешто предизвикува симптоми на Паркинсонова болест кај човекот и мајмуните, но не и кај глодарите. Крајниот метаболит MPP⁺ е невротоксин кој селективно ги деградира клетките во регионот на *substantia nigra* од мозокот каде што всушност се генерира невротрансмитерот допамин.



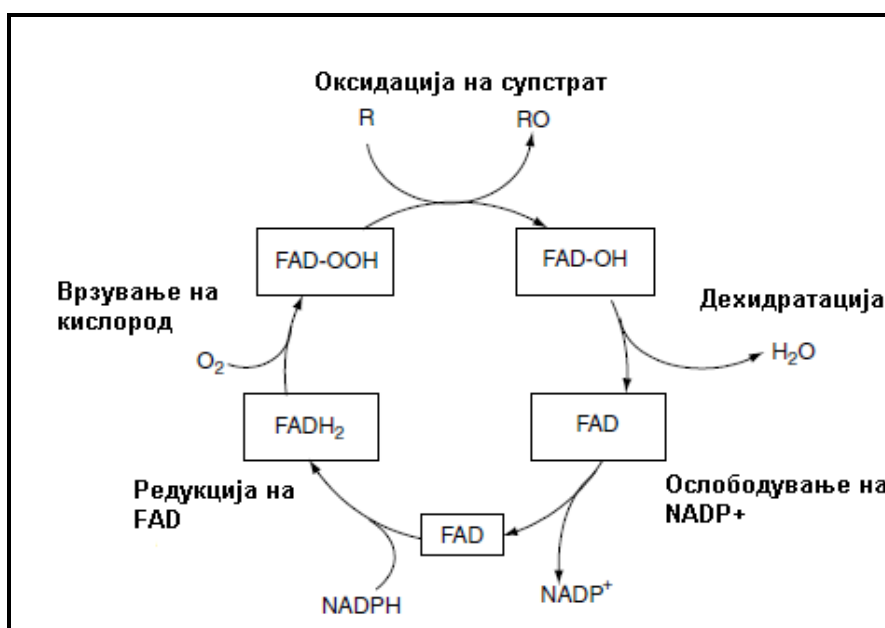
Слика 3.30. (а) Метаболизам на MPTP (1-метил-4-фенил-1,2,5,6-тетрахиdropиридин) од страна на MAO-B; (б) Хемиска структура на паракват

Интересен е фактот дека бипиридилниот хербицид, паракват, има слична структура на токсичниот метаболит на MPTP (слика 3.30 (б)). Некои епидемиолошки студии покажале позитивна корелација меѓу експозицијата на хербицидот и инциденцата за појава на Паркинсонизам, но ова не е случај кај сите испитаници. MAO-B може да биде меѓу генетските фактори кои влијаат на подложноста кон Паркинсонова болест. MAO-B активноста во мозокот кај луѓето се зголемува со стареењето, што можеби се должи на пролиферацијата на глијалните клетки.

Предложено е дека зголемената оксидација на допамин преку MAO-B кај постарите лица може да доведе до губење на допаминергичните неврони во *substantia nigra*, што е основа за Паркинсонова болест. Таквото оштетување може да биде предизвикано преку оксидативен стрес асоциран со оксидативната деаминација на допаминот преку MAO-B ензимот.

3.3.4. Флавин монооксигенази (FMO)

FMO се фамилија на микрозомални ензими кои ги надополнуваат CYP ензимите и тие обично вршат оксидација со нуклеофилен напад на хетероатомите како N, S и P (CYP супстратите обично се метаболизираат преку електрофилен напад на јаглеродните атоми). И CYP и FMO ензимите имаат потреба за ист кофактор, NADPH и молекуларен кислород, иако механизмот на реакцијата е многу различен. За FMO, реакцијата вклучува формирање на пероксид како интермедиерен производ кој потоа го оксидира супстратот (слика 3.31).



Слика 3.31. Каталитички циклус на FMO

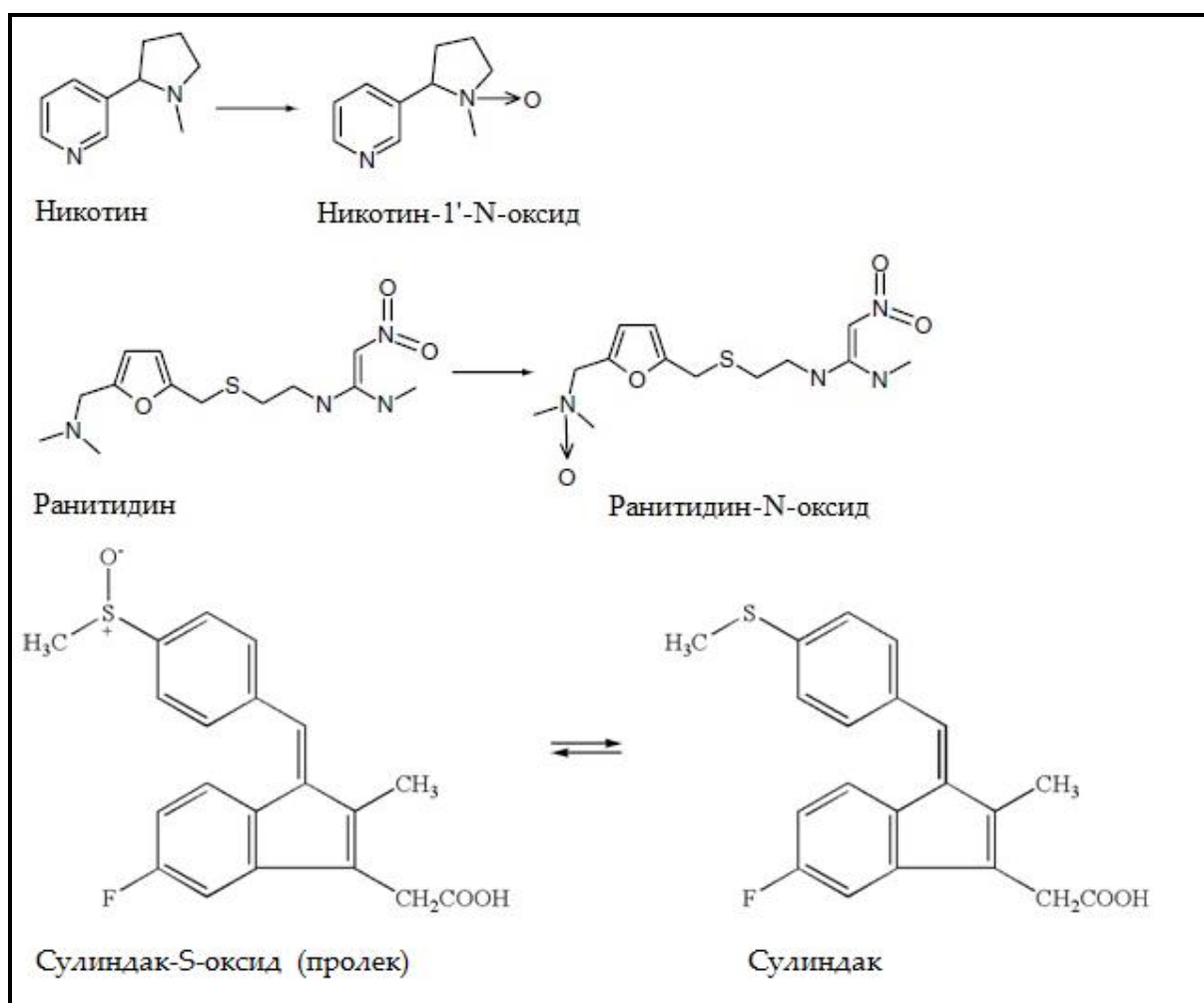
FMO се ензимска суперфамилија која се состои од пет изоформи FMO1 - FMO5. Постојат разлики меѓу животинските видови во појавата на овие изоформи - на пример, FMO1 е распространета во црниот дроб на стаорци, свињи и зајаци, но FMO3 е главната хепатална изоформа кај човекот.

FMO3 ја катализира оксидацијата на терциерни амини до N-оксиди, секундарни амини до хидроксил амини и нитрони и примарни амини до хидроксиламини и оксими. Амфетамин, бензидамин, хлорпромазин, клозапин, гванитидин, имипрамин, оланзапин и тамоксифен се примери за лекови кои содржат азот и кои подлежат на реакции на N-оксидација катализирани преку FMO (и CYP во повеќето случаи) (табела 3.2).

FMO ензимите исто така може да оксидираат и неколку ксенобиотици кои содржат sulfur (како што се тиоли, тиеетери, тиони и тиокарбамати) и фосфини до S- и P-оксиди, соодветно. Циметидин и сулиндок се примери за лекови кои содржат sulfur и кои се конвертираат до сулфоксиди преку FMO изоформите. Во супстратите за FMO3 се вклучуваат и алкалоидот никотин и H_2 -антагонистот ранитидин (слика 3.32).

Табела 3.2. Лекови кои се метаболизираат со учество на FMO

Лекови кои содржат N	Лекови кои содржат S и P
Амфетамин и метамфетамин	Циметидин
Хлорпромазин, промазин	Сулиндак
Имипрамин, амитриптилин	Фенотиазин
Тамоксифен	
Клозапин	
Оланзапин	
Ранитидин	
Верапамил	
Дифенхидрамин	
* Никотин	



Слика 3.32. Примери за метаболизам со учество на FMO

Реакциите кои се катализираат преку FMO се генерално реакции на детоксикација, иако постојат и исклучоци од ова правило. Во ендегените FMO супстрати се вклучуваат цистеамин (кој се оксидира до дисулфид), цистамин и триметиламин (ТМА) којшто се конвертира во ТМА-N-оксид. Преку конвертирање на цистеамин во цистамин, FMO може да служи за продуцирање на дисулфидни-разменски агенси со ниска молекулска маса, кои може да учествуваат во формирањето на дисулфидни мостови во текот на синтезата на пептидите или ренатурацијата на протеините.

Разликите помеѓу животинските видови во релативната експресија на FMO и CYP веројатно ги одредуваат разликите кои се јавуваат меѓу видовите во токсичноста при администрација на пирозолидинските алкалоиди, сенеционин, ретрорсин и монокроталин. Овие соединенија се детоксицираат преку FMO, кој го катализира формирањето на терциерни амин-N-оксиди, но пак се активираат преку CYP, кој ги оксидира овие алкалоиди до пироли кои генерираат токсични електрофилни радикали преку губење на супституентите од пирозолидинското јадро. Стаорците имаат висока активност на CYP за формирање на пироли и ниска активност на FMO за формирање на N-оксиди, додека спротивното важи за заморчињата. Ова најверојатно објаснува зошто пиролизидинските алкалоиди се високо токсични за стаорци, но не и за заморчиња. Многу од реакциите кои се катализираат преку FMO се катализираат и од CYP, но разликите во оксидацијата на пиролизидинските алкалоиди преку FMO и CYP покажуваат дека не секогаш ова е случај.

3.3.5. Цитохром P450

Цитохром P450 (CYP) е суперфамилија на ензими кои играат важна улога во метаболизмот на многу лекови и други ксенобиотици. Сите CYP ензими се протеини кои содржат хем. Железото од хемот во цитохром P450 обично е во фери (Fe^{3+}) состојба. Кога се редуцира во феро (Fe^{2+}) состојба, цитохром P450 може да врзе лиганди како O_2 и јаглерод моноксид (CO). Комплексот помеѓу феро-цитохром P450 и CO апсорбира светлина максимално на 450 nm, од каде што потекнува името на цитохром P450. Сите други хемпротеини кои се врзуваат со CO апсорбираат светлина до максимално ~420 nm. Невообичаениот максимум на апсорбанцата на цитохром P450 се должи на невообичаениот петти лиганд на хемот (цистеин-тиолат).

Од сите ксенобиотик-метаболизирачки ензими, CYP ензимскиот систем е на првото место во однос на каталитичката разновидност и бројот на ксенобиотици кои ги детоксицира или активира до реактивни интермедиери (т.е. учествува во нивниот метаболизам).

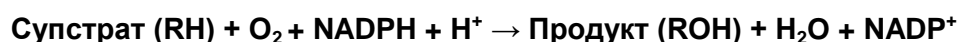
Голем број на канцерогени супстанции се метаболизираат исто преку CYP и најчесто овие добиени метаболити се крајните канцерогени компоненти.

Се проценува дека над 50% од најчесто препишуваните лекови во клиничката пракса се метаболизираат пред сè токму од CYP ензимите.

Во прилог на нивната улога во метаболизмот на лековите, CYP имаат и важни ендогени функции, како синтеза и регулирање на стероидните хормони, жолчните киселини, липосолубилните витамини (како витамин A и D), масните киселини и еикосаноидите како простагландини, тромбосан, простациклин и леукотриени.

Поради ова, CYP ензимите се распространети речиси насекаде во човечкото тело, иако главното место каде се случува метаболизмот на лековите е црниот дроб. CYP вклучени во метаболизмот на лековите се претежно мембрански врзани ензими во рамките на ендоплазматичниот ретикулум на клетките (т.е. во митохондриите), заедно со флавопротеинот NADPH-цитохром P450-редуктаза кој е вклучен во трансферот на електрони од NADPH до CYP.

За разлика од повеќето ензими, CYP вклучени во метаболизмот на ксенобиотиците имаат широка супстратна специфичност која им овозможува да метаболизираат многу широк спектар на соединенија на кои организмот може да биде изложен. И покрај разликите во градбата на активниот центар помеѓу различните CYP изоформи, каталитичкиот механизам е во суштина константен кај сите нив. Основната реакција којашто се катализира од CYP ензимите е монооксидација при која еден атом на кислород се инкорпорира во супстратот (означен со RH), а другиот се редуцира до вода со редуцирачки еквиваленти добиени од NADPH, како што следи:

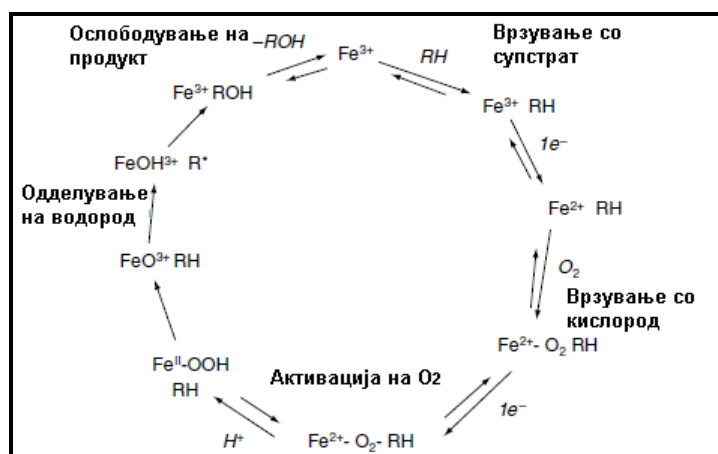


Каталитичкиот циклус на цитохром P450 е прикажан на слика 3.33. Првиот дел од циклусот вклучува активација на кислородот, а финалниот дел од циклусот вклучува оксидација на супстратот, што подразбира одделување на атом на водород или на електрон од супстратот проследено со повторно врзување на кислород.

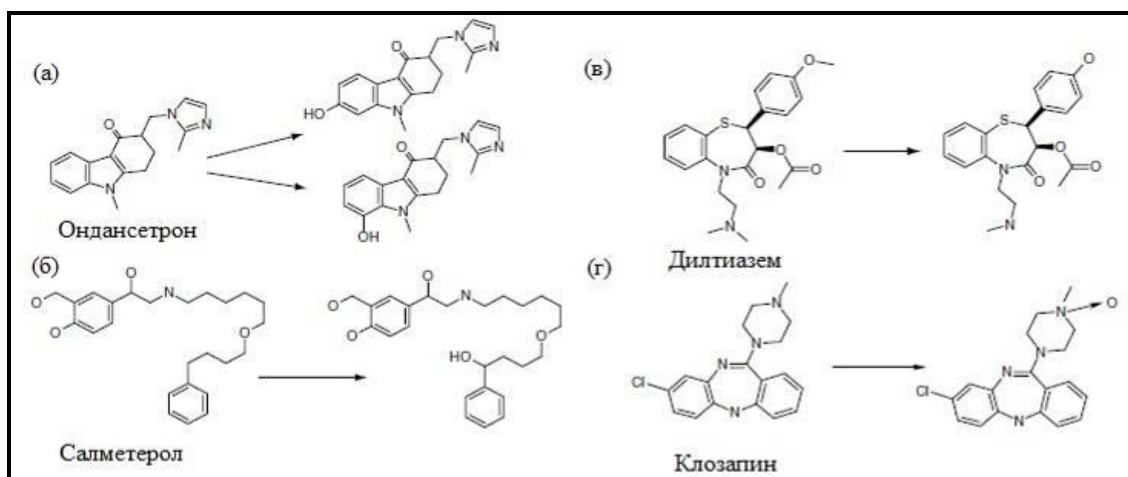
Со овој механизам, CYP катализираат неколку типови на оксидациски реакции, вклучувајќи:

1. Хидроксилација на алифатичен или ароматичен јаглерод;
2. Епоксидација на двојна врска;
3. Оксидација на хетероатом (S, N) и N-деалкилација;
4. Деалкилација на хетероатом (S, N и O);
5. Трансфер на оксидативна група;
6. Расцепување на естри;
7. Дехидрогенација.

Примери за дел од овие реакции се прикажани на слика 3.34. Природата на добиениот производ(и) е управувана од страна на стерични интеракции помеѓу ензимот и супстратот кои ги одредуваат регионите на молекулата кои се достапни за оксидирачките групи, а исто така и термодинамичките фактори кои можат да влијаат на релативната брзина на конкурентските патишта.



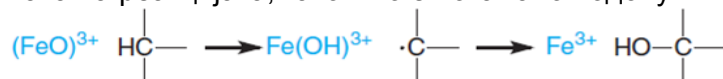
Слика 3.33. Каталитички циклус на цитохром P450



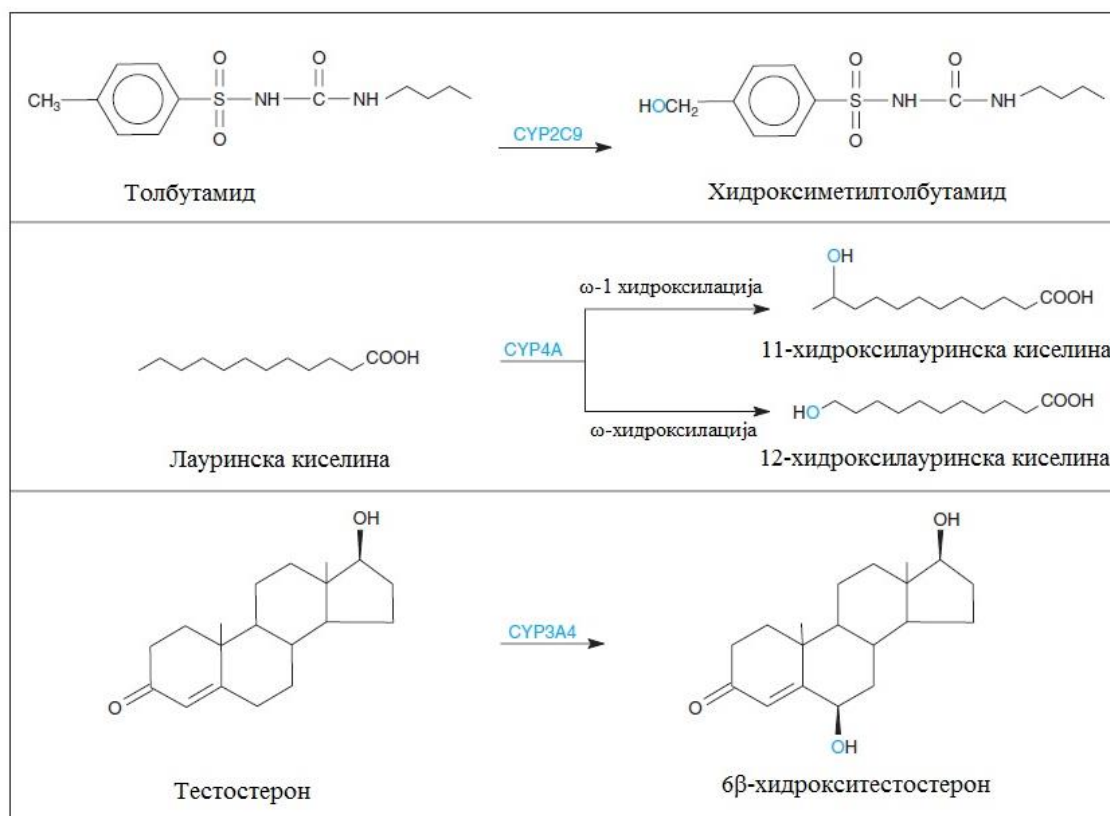
Слика 3.34. Примери за реакции кои се катализираат од CYP: (а) ароматична хидроксилација; (б) алифатична хидроксилација; (в) N-,O-деалкилација; (г) N-оксидација

Дополнителни примери за реакции на алифатична и ароматична хидроксилација кои се катализираат од CYP P450 се покажани на слики 3.35 и 3.36, соодветно. Хидроксилацијата на ароматичните јаглеводороди може да се одвива преку оксидиран интермедиер (т.е. арен оксид) кој изомеризира во соодветен фенол. Алтернативно, ароматичната хидроксилација може да се одвива и преку механизам познат како директно вметнување. Арен оксидите се електрофилни и според тоа, потенцијално токсични метаболити кои се детоксицираат преку ензими како што се епоксид хидролазата и глутатион трансферазата.

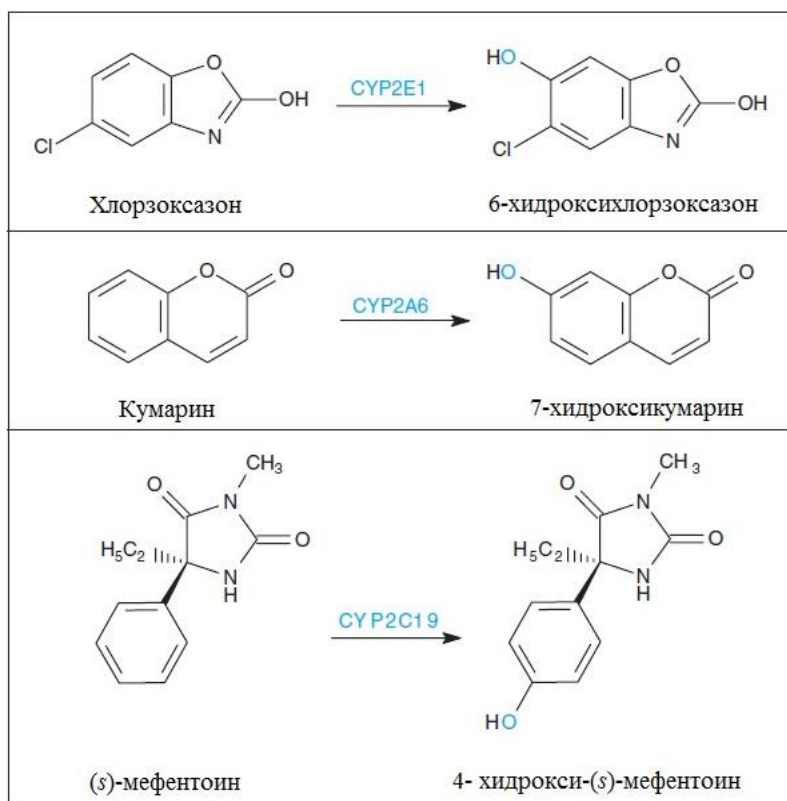
Алифатичната хидроксилација вклучува вметнување на кислород во C-H врската. Како и во случајот на ароматичната хидроксилација преку директно вметнување, раскинувањето на C-H врската преку одделување на водород е чекор кој ја лимитира брзината на реакцијата, како што е покажано подолу:



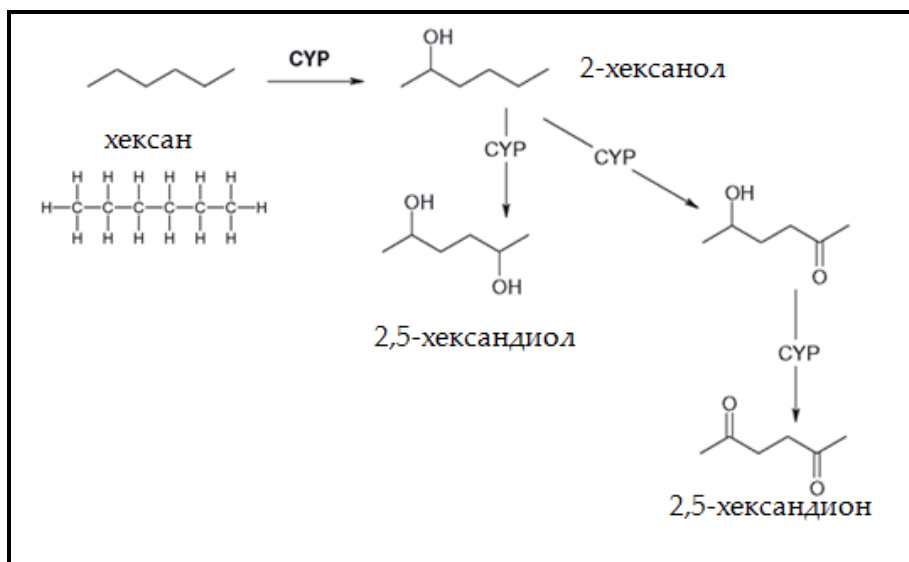
Во случајот на едноставни, праволинейни јаглеводороди, како што е n-хексан, алифатичната хидроксилација се случува на крајните метилни групи и на внатрешните метиленски групи (слика 3.37). Во случајот на масните киселини и нивните деривати (т.е. еикосаноидите како простагландините и леукотриените), алифатичната хидроксилација се случува на ω -јаглеродот (крајната метилна група) и $\omega-1$ јаглеродот (претпоследниот јаглерод) (слика 3.35).



Слика 3.35. Примери на реакции катализирани од цитохром P450: хидроксилација на алифатичен јаглерод



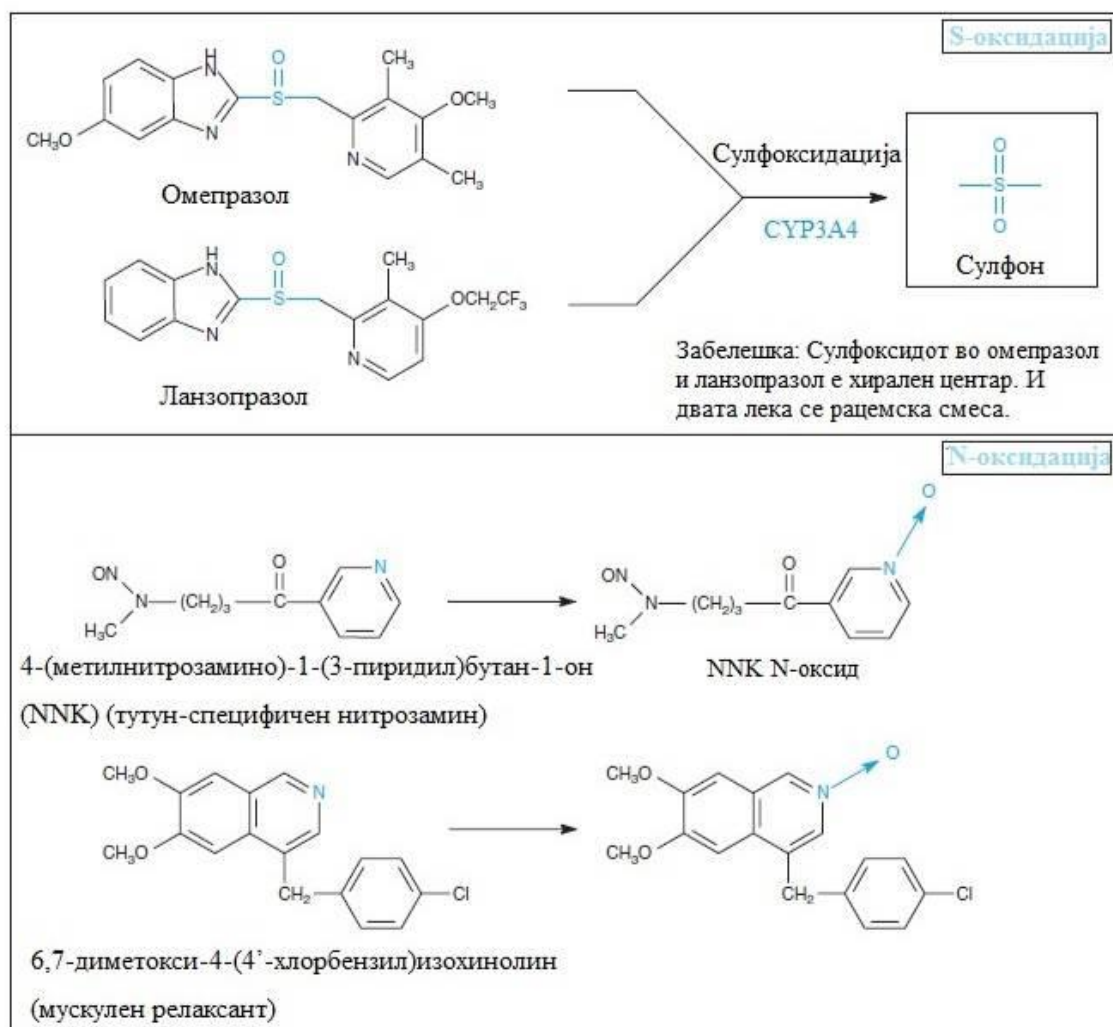
Слика 3.36. Примери на реакции катализирани од цитохром Р450: хидроксилација на ароматичен јаглерод



Слика 3.37. Алифатична хидроксилација на *n*-хексан во реакција катализирана од CYP ензими

Во присуство на NADPH и O₂, хепаталните микрозомални ензими катализираат оксидација на неколку лекови кои содржат сулфур, вклучувајќи хлорпромазин, циметидин, лансопразол и омепразол. Во присуство на NADPH и O₂, овие ензими катализираат и оксидација на неколку лекови и ксенобиотици кои содржат азот, вклучувајќи хлорпромазин, доксиламин, офлакксин, морфин, никотин, МРТР, метапирилен, метаквалон, метронидазол, паргилин, пиридин, сенеционин, стрихнин,

триметиламин, тримипрамин и верапамил, кои се конвертираат во стабилни N-оксиди (слика 3.38). Додека S-оксидацијата може да се катализира преку цитохром P450 и FMO, N-оксидацијата најверојатно се катализира само од CYP ензимите.

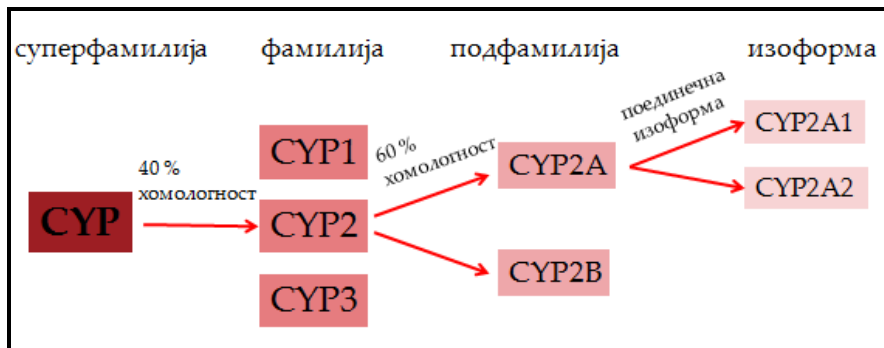


Слика 3.38. Примери на реакции кои се катализираат од цитохром P450: оксидација на хетероатом

Широката и честопати препоклопувачка супстратна специфичност на микрозомалните CYP ензими од црниот дроб ја исклучува можноста за именување на овие ензими по реакциите кои тие ги катализираат. Затоа за да може да се класифицира CYP суперфамилијата, развиена е системска номенклатура.

Оваа номенклатура е базирана на аминокиселинската секвенца на секоја изоформа на поединечните CYP наместо на одредена реакција или супстрати претставници како што е случај со именувањето на други ензими. Изоформите со повеќе од 40% хомологност на секвенцата се доделени на истата генска фамилија (на пр. CYP1, CYP2, CYP3, итн.). Изоформите од истата генска фамилија со повеќе од околу 60% хомологност меѓусебе се класифицираат и понатаму и припаѓаат на иста потфамилија (на пр. CYP2A, CYP2B, итн.). На секој член на потфамилијата потоа му се доделува број за означување на поединечната изоформа, на пример, CYP2A1, CYP2A2, итн (слика 3.39). Во табела 3.3 се прикажани главните CYP изоензимски форми кај човекот и два други животински вида за споредба. Овој систем не прецизира во кој животински вид дадените изоформи се наоѓаат и не обезбедува информации за функцијата на ензимите. На пример, метаболните профили на многу

супстрати кај стаорци ја отсликуваат состојбата и кај човекот, иако вклучените P450 изоформи може и да се разликуваат. Ова е претставено со примерот од CYP3A/2C „врската“ меѓу стаорците и човекот. Така, мефентоинот се хидроксилира претежно од CYP2C кај човекот, а од CYP3A кај стаорците; лидокаинот и нифедипин се класични CYP3A супстрати кај човекот, но првенствено се метаболизираат преку CYP2C кај стаорците.



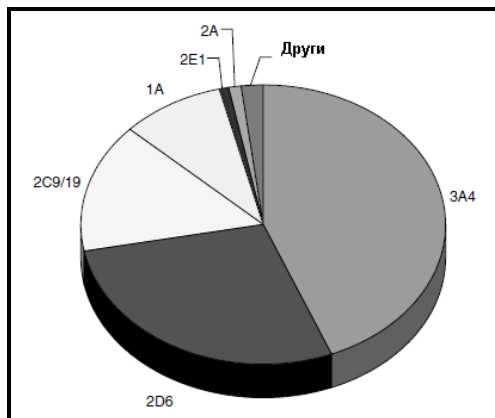
Слика 3.39. Принцип на номенклатурата на CYP изоензимските форми

Табела 3.3. Главни CYP изоформи

CYP	Ткиво	Индукцибилност	Вкупно P450 (%)
Човек			
1A1	Екстрахепатално	Индукцибилна	/
1A2	Црн дроб	Конститутивна/индуцибилна	13
2A6	Црн дроб		4
2B6	Црн дроб	Конститутивна	0,2
2C9/19	Црн дроб	Конститутивна	20
2D6	Црн дроб	Конститутивна	2
2E1	Црн дроб	Конститутивна/индуцибилна	7
3A4	Црн дроб/други	Конститутивна/индуцибилна	30
Стаорец			
1A1	Сите ткива	Индукцибилна	<1
1A2	Црн дроб	Конститутивна	2
	Сите ткива	Индукцибилна	
2A1	Црн дроб	Конститутивна	7-30 (варира во зависност од видот/индуцибилната состојба и др.)
	Црн дроб	Индукцибилна	
2B1/2	Бели дробови, тестиси	Конститутивна	5
	Сите ткива	Индукцибилна	
2C11	Црн дроб	Конститутивна	54
2D1	Црн дроб/бубрези	Конститутивна	/
2E1	Црн дроб/бубрези	Конститутивна	/
	Црн дроб/бели дробови	Индукцибилна	
3A1	Црн дроб/црева	Конститутивна/индуцибилна	17
Куче			
1A	Хепатално	Индукцибилна	Слично како кај човек
2B11	Црн дроб	Конститутивна	Повисоки нивоа отколку кај човек
2C21	Црн дроб	Конститутивна	Минорна форма
2D	Црн дроб	Конститутивна	Пониски нивоа отколку кај човек
3A12	Црн дроб/други	Конститутивна	Слично како кај човек кај 3A; повисока каталитичка ефикасност

Бројот на идентификуваните CYP ензими се зголемува навидум секојдневно. За среќа, групата на изоформи вклучени во човековиот метаболизам на лекови во моментот е ограничена на само пет или шест и тоа: CYP1A2, 2C9, 2C19, 2D6 и 3A4/5 (слика 3.40).

И покрај релативно малиот број на вклучени CYP ензимски изоформи, постои забележителна интра- и интер- индивидуална варијабилност и во генотипот и во фенотипот кај човечката популација, која честопати може да биде главната причина за варијабилноста во ефикасноста и/или токсичноста на многу од препишаните лекови кај различните пациенти.



Слика 3.40. Процент на најчесто користени лекови кои се метаболизираат од најважните CYP изоформи

Во прилог на ефектите од возраста и полот, обемот и степенот на CYP активноста се под влијание и на генетски и на фактори од животната средина. Генерално, намалената активност на CYP ензимите може да биде резултат од:

(1) генска мутација која или ја блокира синтезата на CYP ензимот или води до синтеза на каталитички компромитиран, неактивен или нестабилен ензим, што од своја страна доведува до пораст на појавата на фенотипот на слаби метаболизатори (СМ) и интермедиерни метаболизатори (ИМ);

(2) експозиција на фактори од животната средина (како инфективна болест или воспалителен процес) кои ја супресираат експресијата на CYP ензимите или

(3) изложувањето на ксенобиотик кој инхибира или инактивира CYP ензими.

Преку инхибицијата на определена изоформа на CYP P450, еден лек може да го наруши метаболизмот на друг лек, што може да доведе до потенцирање на фармаколошкиот или токсиколошкиот одговор на вториот лек (слика 3.41).



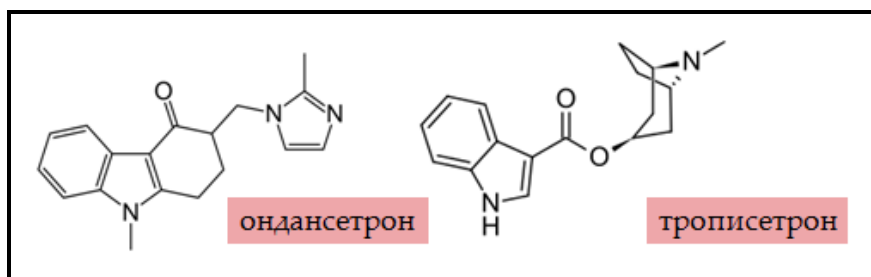
Слика 3.41. Шематски приказ на најважните CYP450 изоензимски форми со примери за супстрати и селективни инхибитори

Влијанието на многубројните генетски полиморфизми меѓу CYP ензимите врз човековиот метаболизам на лекови е најјасно покажано за CYP2D6, CYP2C9 и CYP2C19 изоформите. Овие полиморфни изоформи се важен дел за различието на метаболизирачките ензими за лекови кај човекот и затоа недостатоците во нивната активност може да имаат значајни последици за диспозицијата на соединенијата кои се зависни од нивното метаболизирање за крајното излачување од организмот.

Значаен дел од различните популации се идентификувани како „лоши метаболизатори“ на определени лекови, како што се на пример дебрисоквин (супстрат за CYP2D6) и S-мефентоин (CYP2C19) (табела 3.4), а постојат и многу други забележани случаи. Од клиничка перспектива, појавата на слаб метаболизирачки фенотип (CM) за даден лек зависи во голема мера од фракцијата на администрираната доза која се елиминира преку засегнатата изоформа и достапноста на алтернативни или компетиторни механизми за елиминација на истата. На пример, 5-HT₃ рецепторните антагонисти, ондансетрон и трописетрон (слика 3.42) може да се метаболизираат *in vitro* од полиморфниот изоензим CYP2D6. Сепак, иако ова е главниот пат за трописетрон, метаболизмот со CYP3A4 е доминантен пат на елиминацијата на ондансетрон. Така, кај пациенти кај кои има дефицит на CYP2D6, полуживотот на трописетрон во плазмата се зголемува од околу 9 на 30 часа, додека промена во полуживотот на ондансетрон не се забележува. Дали постоењето на полиморфизми кај ензимите вклучени во метаболизмот на лекот, ќе има некакви негативни клинички последици или не, сепак зависи од терапевтската граница на лекот при што неговите покачени плазмени концентрации може да имаат исто така и влијание и врз ко-администрираните лекови.

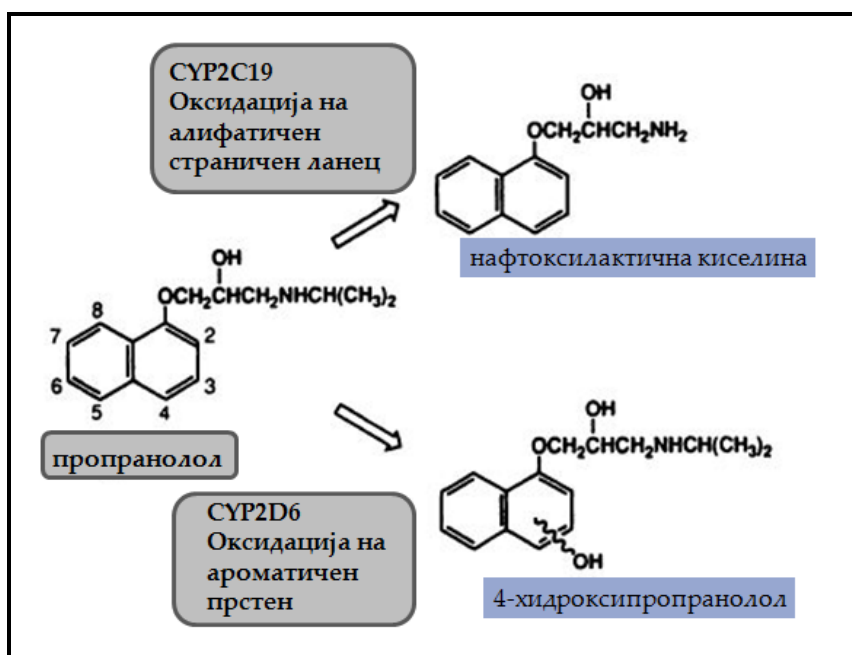
Табела 3.4. Дистрибуција на полиморфните CYP изоформи кај човекот

Ензим	Варирачки адели	Ензимска функција	Фреквенција на адели (%)		
			Бела раса	Азијати	Црна раса
CYP2A6	CYP2A6 x 2	Инактивен	1-3	0	-
	CYP2A6(дел)	Ензимот недостасува	1	15	-
CYP2C9	CYP2C9 x 2	Редуцирана активност за редуктаза	8-13	0	-
	CYP2C9 x 3	Влијае врз супстратната специфичност	6-9	2-3	-
CYP2C19	CYP2C19 x 2	Инактивен	13	23-32	13
	CYP2C19 x 3	Инактивен	0	6-10	-
CYP2D6	CYP2D6 x 2 x n	Зголемена активност	1-5	0-2	2
	CYP2D6 x 4	Инактивен	12-21	1	2
	CYP2D6 x 5	Ензимот недостасува	2-7	6	4
	CYP2D6 x 10	Нестабилан ензим	1-2	51	6
	CYP2D6 x 17	Редуцирана	0	-	34

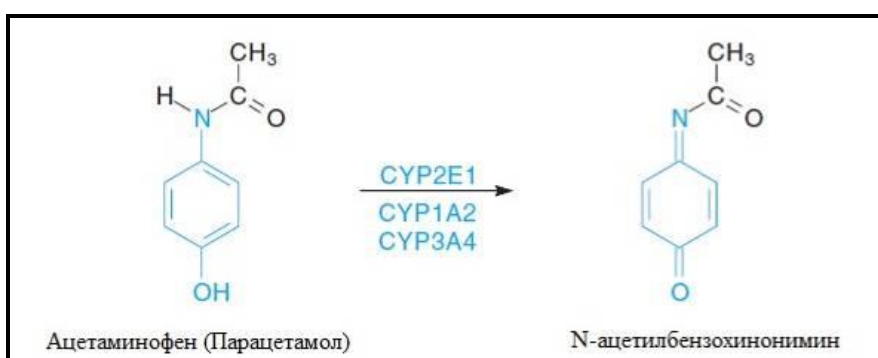


Слика 3.42. Структурни формули на 5-HT₃ рецепторните антагонисти, ондансетрон и трописетрон

Како резултат на нивната широка специфичност за супстрати, можно е два или повеќе CYP ензими да придонесуваат за метаболизмот на едно исто соединение. На пример, двата CYP ензими, означени како CYP2D6 и CYP2C19, придонесуваат значајно за метаболизмот на пропранолол кај луѓето и тоа: CYP2D6 го оксидира ароматичниот прстен за да се добие 4-хидроксипропранолол, додека CYP2C19 го оксидира изопропил-аминскиот страничен ланец за да се добие нафтоксилатична киселина (слика 3.43). Последователно, промени само на CYP2D6 или само на CYP2C19 не влијаат значајно, но редок комбиниран генетски дефицит на обата ензими значително го нарушува метаболизмот на пропранолол кај индивидуата. Три CYP ензими кај човекот, CYP1A2, CYP2E1 и CYP3A4, можат да учествуваат во конверзијата на широко употребуваниот аналгетик, ацетаминофен (парацетамол) до неговиот хепатотоксичен метаболит, N-ацетилбензохинонимин (слика 3.44).



Слика 3.43. Метаболизам на пропранолол



Слика 3.44. Пример на реакција која се катализира од цитохром P450 (три различни изоформи) и води до формирање на хепатотоксичен метаболит на ацетаминофен

Исто така, можно е еден CYP ензим да катализира две или повеќе метаболички патеки на еден ист лек. На пример, CYP2D6 катализира O-деметилација и истовремено и 5-хидроксилација (хидроксилација на ароматичен прстен) на метоксифенамин, додека CYP3A4 катализира 3-хидроксилација и N-оксидација на хинидин.

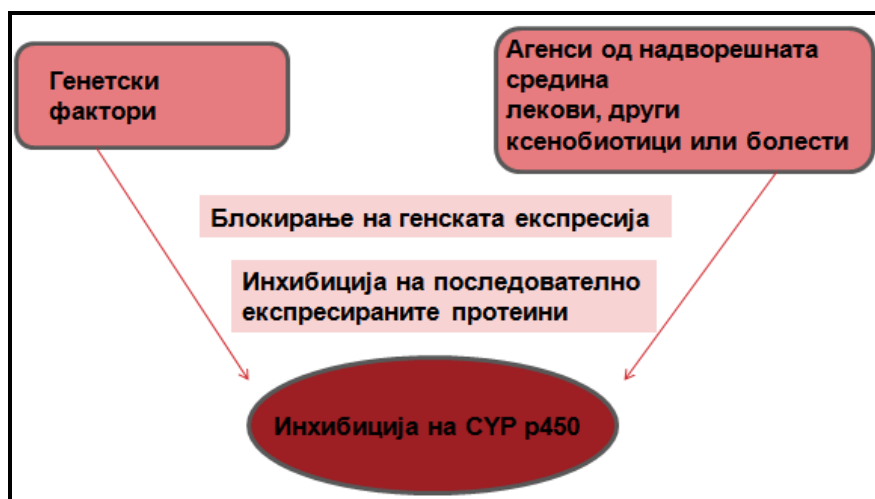
Некои главни карактеристики на најважните ксенобиотик-метаболизирачки CYP ензими кај луѓето би биле:

1. Двата CYP ензими, имено, CYP2D6 и CYP3A4, го метаболизираат поголемиот дел од лековите кои се администрираат перорално, но тие често метаболизираат различни лекови; како резултат на ова постојат многу лекови чие излучување во голема мера е детерминирано од CYP ензими различни од CYP2D6 или CYP3A4. Интериндивидуалната варијација во CYP2D6 (кој главно се наоѓа во црниот дроб), во голема мера е детерминирана од генетски фактори, додека интериндивидуалната варијација во CYP3A4 (кој се експресира во црниот дроб и цревата), во голема мера е детерминирана од надворешни фактори (како присуство на други лекови инхибитори или индуктори).
2. CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 и CYP3A4 се четири ксенобиотик-метаболизирачки CYP ензими чија експресија е под значително влијание на генетските полиморфизми кои даваат пораст на фенотипот на слаби метаболизатори (СМ) и екстензивни метаболизатори (ЕМ), инциденца која варира од една до друга расна група.
3. Индукцијата на CYP3A4 е често поврзана и со индукција на CYP2A6, 2B6, 2C8, 2C9 и 2C19. CYP1A2 и CYP2E1 се исто така индуцибилни ензими, но преку различни механизми и различни ксенобиотици кои делуваат како индуктори. Како резултат на ова, CYP1A2, 2E1 и 3A4 претставуваат три различни класи на индуцибилни човечки CYP ензими. CYP2D6 се смета за неиндуцибилен ензим.

4. ИНДУКЦИЈА И ИНХИБИЦИЈА НА СYP ЕНЗИМИ. КСЕНОСЕНЗОРИ

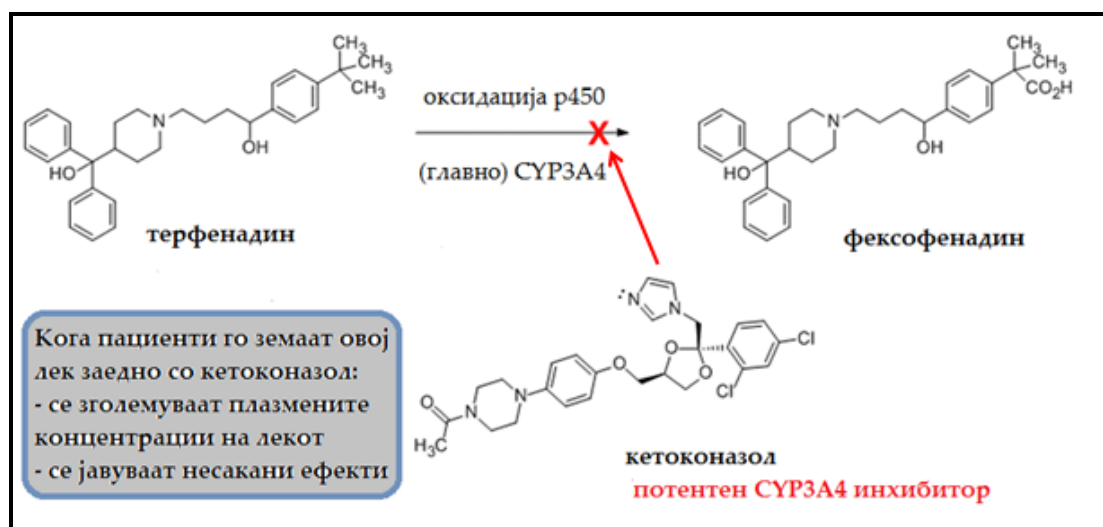
4.1. Инхибиција на СYP ензими

Освен генетските фактори и присуството на агенси од надворешната средина како лекови, други ксенобиотици или болести, може да предизвика (вообичаено) минливо слабеење на СYP активноста, или преку блокирање на генската експресија или со инхибиција на последователно експресираниите протеини (слика 4.1).



Слика 4.1. Настанување на инхибиција на СYP ензимите

Инхибицијата на СYP активноста од страна на молекулите на лековите е област од интензивен интерес при проучувањето на метаболизмот на лекови. Настанувањето на несакани лек-лек интеракции и/или нарушување на ендегените биохемиски патишта како резултат на СYP инхибицијата може сериозно да ја компромитира или дури и спречи клиничката одржливост на некои лекови. Постојат повеќе документирани примери за случаи на инхибиција, вклучувајќи ја овде и интеракцијата меѓу антихистамините (терфенадин) и антифунгалните лекови (кетоконазол), каде што инхибицијата од кетоконазолот на СYP3A4-медирираниот метаболизам на терфенадин резултира со кардиотоксичност и во некои случаи дури и смрт кај пациенти кои ги земале двата лека истовремено (слика 4.2).



Слика 4.2. Инхибиторна интеракција меѓу терфенадин и кетоконазол

Инхибиторните реакции на лековите главно припаѓаат во две категории: **директна и временски-зависна инхибиција**.

1. **Директна инхибиција** се случува кога лек го инхибира CYP ензимот без одложување (односно, веднаш штом ќе се врзе за CYP ензимот (за неколку секунди)) и без да е потребно да претрпи биотрансформација. Директната инхибиција може да се подели на два типа.

- 1.1. Првиот вклучува *компетиција помеѓу два лека кои се метаболизираат преку исти CYP ензим*. На пример, омепразол и диазепам се метаболизираат преку CYP2C19. Кога двата лека се администрираат истовремено, омепразолот го намалува плазменото излучување на диазепам и го пролонгира неговиот полуживот. Се препоставува дека инхибицијата на метаболизмот на диазепам преку омепразол вклучува компетиција за метаболизмот со CYP2C19 бидејќи оваа инхибиција не постои кај CYP2C19 слабите метаболизатори (индивидуи кои имаат недостаток на CYP2C19) (слика 4.3).

- 1.2. Вториот тип на директна инхибиција е случај кога *лекот-инхибитор не е супстрат за засегнатиот CYP ензим*. Инхибицијата на метаболизмот на декстрометорфан преку хинидин е добар пример за овој тип на интеракција помеѓу лекови и е редок пример за тип на позитивна инхибиција при интеракцијата помеѓу лекови. Декстрометорфанот трпи О-деметилација преку CYP2D6 и неговото излучување е забавено кај индивидуи кои имаат недостаток од овој ензим. Излучувањето на декстрометорфан слично се забавува и неговата плазмена концентрација се стабилизира кога овој лек се зема заедно со хинидин кој пак е потентен инхибитор на CYP2D6 изоензимот. Хинидинот не се метаболизира преку CYP2D6. Позитивниот ефект од пролонгираното присуство на декстрометорфан може да се користи за лекување на рефракторна кашлица, дерматитис, егзема, хронична болка (канцер, траума, невропатска болка), тинитус итн.

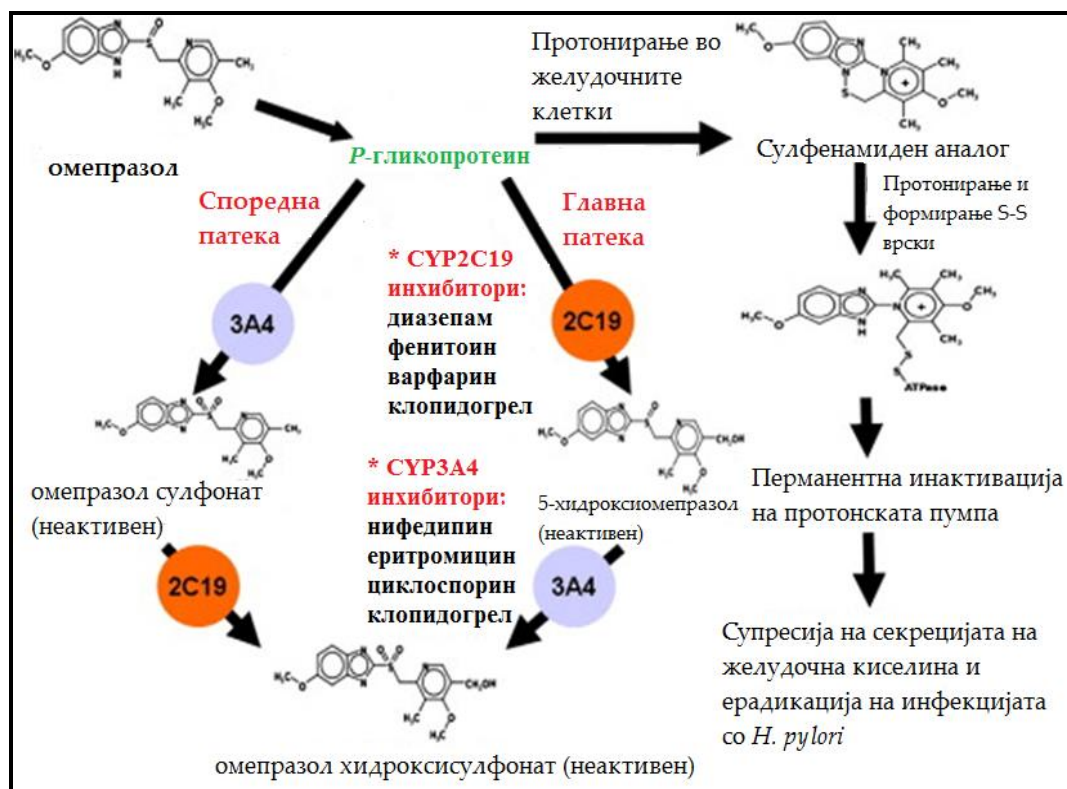
Директната инхибиција може да се случи од страна на најмалку четири механизми и според тоа да биде: компетитивна, некомпетитивна, мешана и неконкурентна.

2. **Временски-зависната инхибиција** се случува кога инхибиторната потентност на лекот се зголемува со времето на инкубација, што може да се одрази на брзината (намалена) или почесто и на самата потреба од биотрансформација. Временски-зависната инхибиција вклучува **квази-иреверзибилна и иреверзибилна метаболизам-зависна инхибиција** (предизвикана од лекови како тролеандомицин, мибефрадил, дилтиазем, тиенилна киселина, халотан и фурафилин). Временски-зависната инхибиција се случува кога инхибиторниот потенцијал на лекот се зголемува како што со текот на времето ензимот е изложен на дејството на инхибиторот. Овој тип на инхибиција може да се случи по неколку механизми:

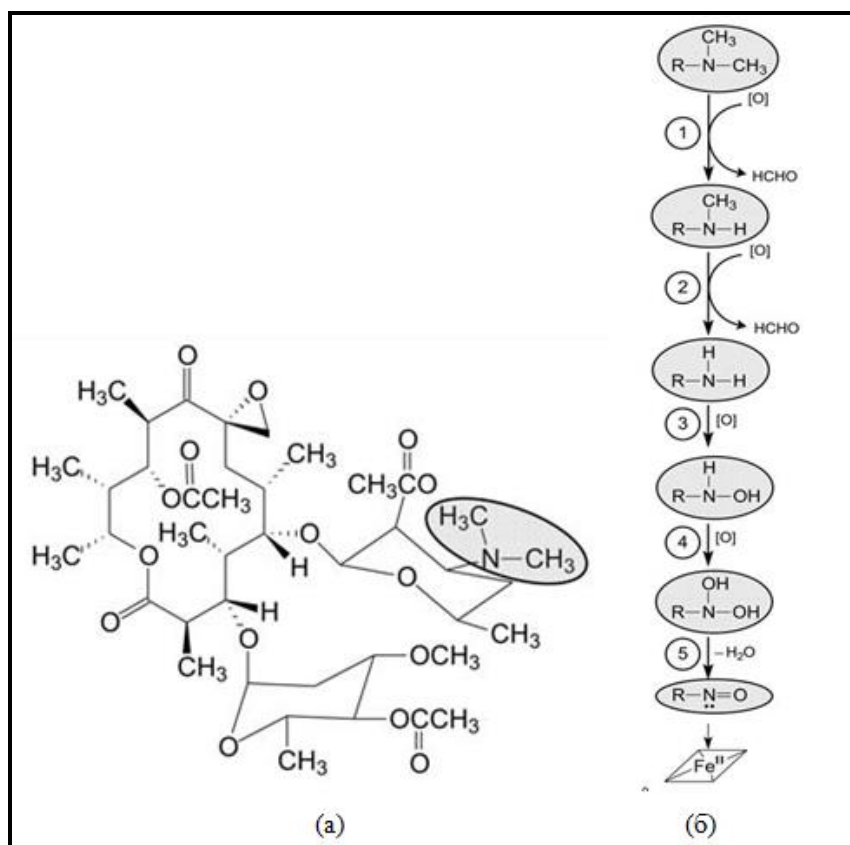
- 1) Бавно врзување на инхибиторот (пр., инхибиција на стероидогениот ензим CYP19A1 од страна на 19-азидо-андростендион)
- 2) Неензимска конверзија на лек во инхибиторен продукт (пр., рабепразол – е во вид на сулфоксид кој трпи неензимска редукција до сулфид кој ги инхибира CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 и CYP3A4 со 16 пати повисок потенцијал отколку родителското соединение).

- 3) Метаболизам-зависна конверзија на лекот во продукт кој е многу попотентен директно-дејствувачки инхибитор отколку родителското соединение (пр., конверзија на флуоксетин до норфлуоксетин)
- 4) Метаболизам-зависна конверзија на лекот во продукт кој:
 - **квази-иреверзибилно** координира со железото во хемот на CYP ензимот (пр., тролеандомицин) (слика 4.4) и се формира т.н. метаболит-инхибиторен комплекс (MIC), или
 - **иреверзибилно (ковалентно)** се врзува со аминокиселинските резидуи или хемот во CYP ензимот на начин што значајно ја намалува или комплетно ја оневозможува неговата каталитичка активност. Примери за вакви инхибитори се фурафилин (CYP1A2), псоралени (8-метоксипсорален) (CYP2A6), клопидогрел (CYP2B6), тиенилна киселина (CYP2C9) и тиклодипин (CYP2C19)). Овие соединенија содржат фурански или тиофенски прстен кој се активира преку цитохром P450 во реактивен метаболит кој го инактивира ензимот (т.н., реакција на суицидална инактивација).

Постојат случаи каде се покажало дека инхибицијата на цитохром P450 има и свои предности, како што е случајот кај одредени комбинации на анти-ХИВ лекови. На пример, преку инхибирање на CYP3A4, ХИВ протеазниот инхибитор ритонавир го подобрува фармакокинетскиот профил на саквинавир и лопинавир, протеазни инхибитори кои многу брзо се излачуваат преку CYP3A4 што предизвикува нивните нивоа во крвта брзо да паднат под терапевтски ефективните концентрации.

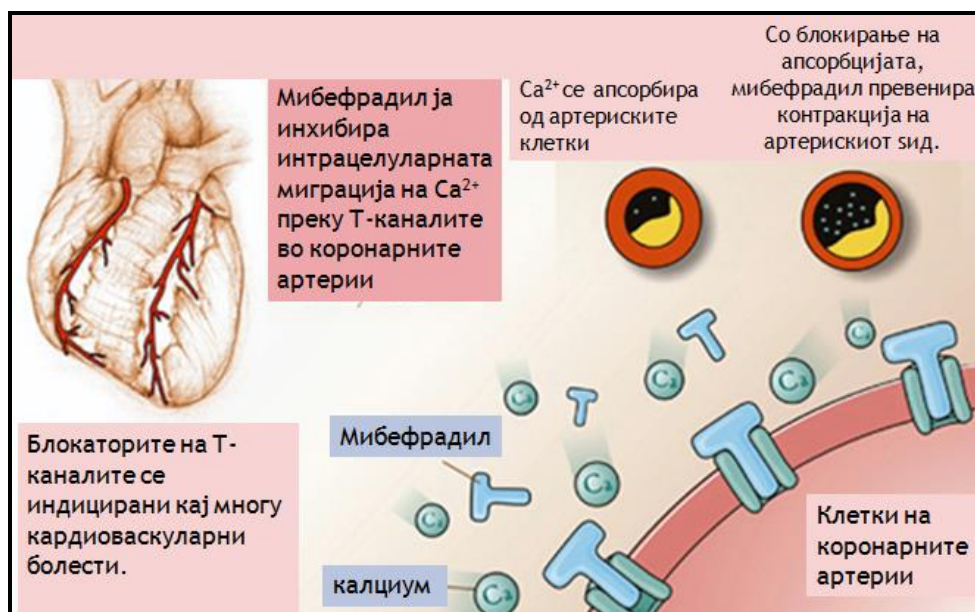


Слика 4.3. Механизам на директна инхибиција на метаболизмот на диазепам од страна на омепразол



Слика 4.4. Квази-иреверзибилна инхибиција: (а) структурна формула на тролеандомицин; (б) конвертирање на тролеандомицин во нитрозо-метаболит кој координативно се врзува со железото во хемот на CYP3A4
(Тролеандомицин е метаболизам-зависен инхибитор кој формира MIC и предизвикува квази-иреверзибилна инхибиција на CYP3A4. Тој содржи терциерен амин ($R-N(CH_3)_2$) кој се конвертира преку неколку последователни реакции на оксидативна N-деметилација до нитрозо метаболит ($R-N=O$) кој координативно се врзува за железото од хемот).

И покрај знаењето за појавата на CYP инхибицијата и развојот на низа *in vivo* и *in vitro* методологии за истражување на потенцијалните интеракции, случајот со повлекувањето на лекот мибефрадил (Mibefradil, PosicorTM) од пазарот кое се должи на појавата на низа на непредвидени лек-лек интеракции, покажува дека ова сè уште може да биде сериозен проблем во процесот на развојот на нови лекови (слика 4.5).



Слика 4.5. Механизам на дејство на мибефрадил

4.2. Индукција на CYP ензими

Освен инхибицијата, индуцирањето на CYP активноста, исто така, може да доведе до варијабилност во метаболизмот на лековите. Присуството на повеќе копии на еден CYP-ген може да доведе до повисоки конститутивни нивоа на активните ензими за разлика од индивидуите кои поседуваат само една копија од генот. Почесто, повисоки нивоа на определени CYP ензими може да се индуцираат од изложеност на различни ксенобиотици, како што се лекови, компоненти од храната или пак чад од цигари (табела 4.1).

Табела 4.1. Примери за индуктори на човековите црnodробни CYP изоформи

CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	CYP2E1	CYP3A4
Мешунки	Рифампицин	Рифампицин	Етанол	Рифампицин
Зелјест зеленчук			Изонијазид	Дексаметазон
β -нафтофлавон				Карбамазепин
Омепразол				Фенобарбитал
Чад од цигари				Фенитоин
3-метил-холантрен				Тролеандомицин
				Троглитазон

Индукцијата на ксенобиотик-метаболизирачките ензими и транспортери е рецептор-посредуван, адаптивен процес кој ја зголемува елиминацијата на ксенобиотикот во услови на висока изложеност на истиот. Ензимската индукција преку еден лек може да го зголеми излучувањето на друг лек кој истовремено се администрира, што е причина за појава на лек-лек интеракции.

Како причина за сериозни несакани дејства, ензимската индукција е генерално помалку важна од ензимската инхибиција, бидејќи инхибицијата може да предизвика брзо зголемување на концентрацијата на засегнатиот лек во крвта што може да биде причина за нагласен фармаколошки или токсиколошки ефект.

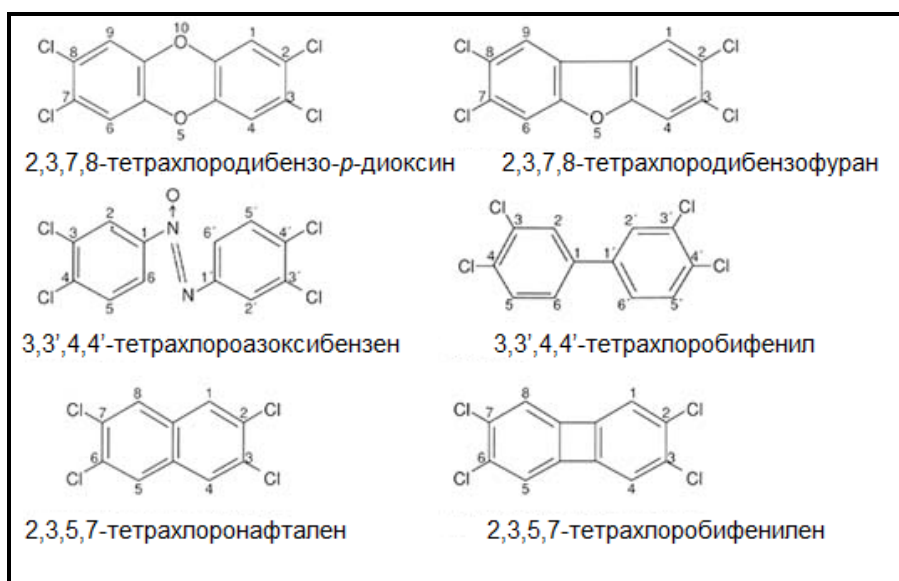
Спротивно на ова, ензимската индукција ја намалува концентрацијата на лекот во крвта. Индукцијата на CYP ензимите генерално се предизвикува од степенот на продолжителност на изложеноста, или преку повеќекратно дозирање на лекот или пак

постоечки подолг полуживот при акутна терапија со даден лек. Индукцијата на одредени CYP изоформи може да се манифестира клинички преку намалување на системската изложеност на агенсот-индуктор при повторување на администрацијата (автоиндукција) и/или на ко-администрираните лекови и со тоа да резултира со значително намалување на ефикасноста на терапијата.

Сепак, ензимската индукција може и да не биде поврзана со губење на терапевтската ефикасност. Ова е случај од особена важност кога е компромитирана терапевтската ефикасност на лекови кои имаат тесен терапевтски индекс и се користат во третман на болести опасни по живот, како анти-ХИВ лекови, имunosупресивни лекови (како циклоспорин и такролимус), орални антикоагуланси (како варфарин) или лекови кои покажуваат квантална (сè или ништо) доза-одговор поврзаност како што се оралните стероидни контрацептиви (кои или ја блокираат или не ја блокираат овулацијата и на тој начин обезбедуваат или не обезбедуваат заштита од несакана бременост).

На пример, индукција на CYP3A4 од страна на антибиотикот рифампицин, предизвикува намалување на системската изложеност на синтетичките стероиди како што е етинилестрадиол (кој се метаболизира преку оваа CYP изоформа), што резултира со губење на контрацептиската активност на последниот.

Некои од најефикасните индуктори на цитохром P450 се полихалогенираните ароматични јаглеводороди (PNAH) какви што се полихлорирани деривати на дибензо-*p*-диоксин (PCDD), дибензофлураните (PCDF), азобензените и азоксибензените, бифенил (PCB) и нафтаген (слика 4.6). Во принцип, полихлорираниите соединенија се отпорни на биотрансформација во организмот и предизвикуваат пролонгирана индукција на CYP, но и на други ензими исто така.



Слика 4.6. Хемиски структури на некои од полихалогенираните ароматични јаглеводороди

Точните механизми со кои се случува CYP индукцијата се само делумно разјаснети. Во принцип, индукцијата на CYP ензимите се посредува во најголемиот број случаи преку четири **јадрени лиганд-активирани рецептори** или т.н. **ксеносензори**. Овде спаѓаат:

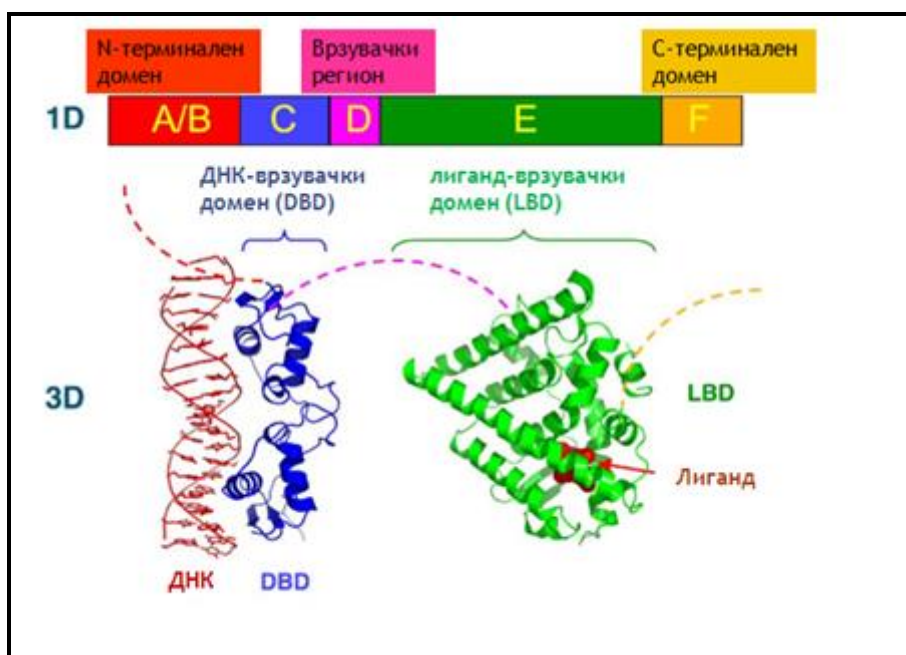
- арил јаглеводороден рецептор (AhR),
- конститутивен андростански рецептор (CAR),

- прегнан X рецептор (PXR) и
- пероксизомски пролифератор-активиран рецептор-алфа (PPAR α).

Потврдени се улогите на AhR, PXR и CAR рецепторите во индукцијата на CYP1A, CYP3A и CYP2B, соодветно. Во табелата 4.2 се прикажани постоечките јадрени рецептори со нивните соодветни лиганди кои предизвикуваат индукција на метаболизмот на определени лекови. Структурната организација на јадрените рецептори вклучува диференцијација на два домени: лиганд-врзувачки (LBD) и ДНК-врзувачки домен (DBD), како што е илустрирано на слика 4.7.

Табела 4.2. Јадрени рецептори кои вршат индукција на метаболизмот на лекови

Рецептор	Лиганд
Арил јаглеводороден рецептор (AhR)	Омепразол
Конститутивен андростански рецептор (CAR)	Фенобарбитал
Прегнан X рецептор (PXR)	Рифампин
Пероксизомски пролифератор-активиран рецептор-алфа (PPAR α)	Фибрати
Фарнезоид X рецептор (FXR)	Жолчни киселини
Витамин D рецептор	Витамин D
Рецептор на ретиноидна киселина (RAR)	<i>trans</i> -ретиноидна киселина
Ретиноид X рецептор (RXR)	<i>9-cis</i> -ретиноидна киселина



Слика 4.7. Структурна организација на јадрените рецептори

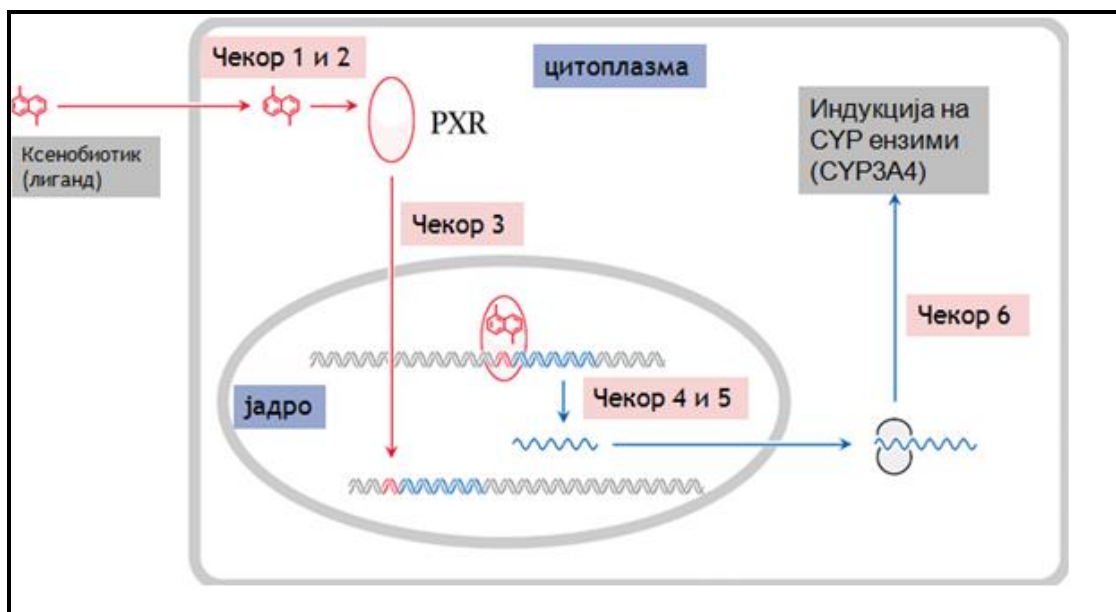
Вообичаено, индукцијата на CYP ензимите ги вклучува следните чекори (чекорите 2 и 3 се обратно поставени во случајот на AhR) (слика 4.8):

- (1) Врзување на лигандот (ксенобиотик) за рецепторот, што предизвикува конформациски промени кои промовираат негова дисоцијација од помошните протеини (како ко-рецептори, шаперони и протеини кои се задржуваат во цитоплазмата) и/или негова асоцијација со ко-активаторите.
- (2) Димеризација на лиганд-врзувачкиот рецептор со партнер-протеин за да се формира ДНК-врзувачки хетеродимер (функционална целина).

- (3) Транслокација на функционалниот рецепторен хетеродимер од цитоплазмата во јадрото.
- (4) Врзување на функционалниот рецепторен хетеродимер за дискретни региони на ДНК (елементи на одговор) кои се најчесто лоцирани во 5'-промоторскиот регион на генот.
- (5) Регрутирање на други фактори на транскрипција и РНК-полимераза за да се формира транскрипциски комплекс.
- (6) Генска транскрипција, што води до зголемени нивоа на CYP-mRNA и CYP ензимите (како и на други ксенобиотик-метаболизирачки ензими и транспортери).

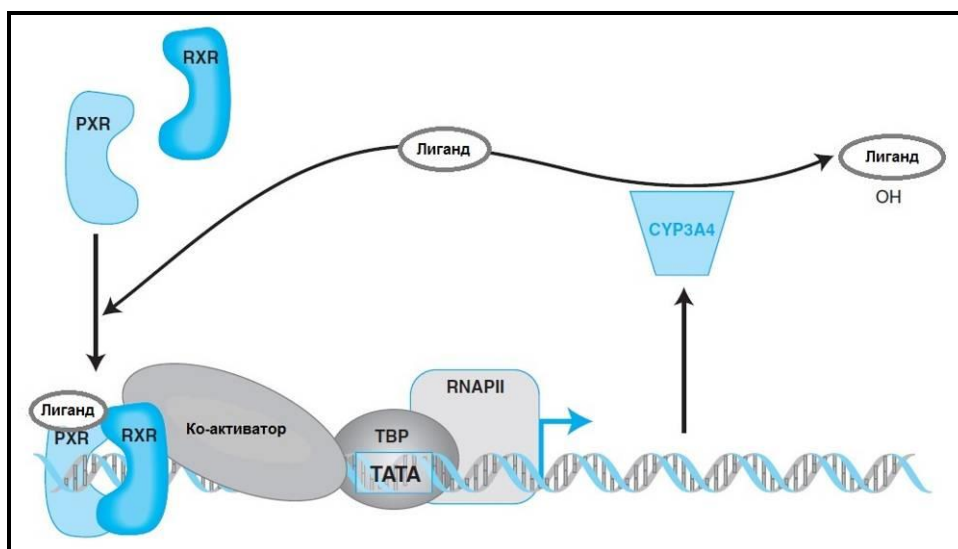
На слика 4.9 шематски е прикажан и случај според кој еден лек-лиганд (аторвастатин) може да реагира со јадрените рецептори и да го индуцира сопствениот метаболизам (случај на автоиндукција).

Индукцијата на CYP ензимите исто така може да вклучува и други механизми различни од рецептор-посредуваната активација на транскрипцијата. На пример, зголемената транслација на веќе постоечка mRNA е механизам преку кој неколку ксенобиотици ги зголемуваат нивоата на CYP2E1, зголемената транслациона ефикасност и стабилизација на протеините играат важна улога во индукијата на CYP1A2, 2E1 и 3A ензимите итн.



Слика 4.8. Последователни чекори во настанувањето на индукијата на CYP ензимите прикажано преку примерот на PXR ксеносензорот

Кога соодветен лек ќе се врзе за овој рецептор, тој се транслоцира од цитоплазмата до јадрото и се врзува за својата сродна регулаторна ДНК секвенца; PXR одговара на особено широк спектар на лекови кои во голем дел се метаболизираат преку CYP3A4 изоформата.



Слика 4.9. Автоиндукција на метаболизам на лек посредувана со јадрени рецептори

Кога лек како што е аторвастатин (лиганд) ќе навлезе во клетката, може да се поврзе со јадрен рецептор како што е PXR. PXR потоа формира комплекс со ретиноидниот X рецептор (RXR), се врзува за ДНК на целните гени, регрутира ко-активатор (кој се врзува за TATA делот на врзувачкиот протеин, TBP) и ја активира транскрипцијата. Меѓу PXR целните гени се и гените кои го кодираат CYP3A4, изоензим кој може да го катализира метаболизирањето на аторвастатин и да ја намали неговата клеточна концентрација. На овој начин, аторвастатинот го индуцира својот сопствен метаболизам. Аторвастатинот може да се подложи и на орто- и на пара-хидроксилација (Според Handschin and Meyer, 2003).

4.3. Ксеносензори

4.3.1. Арил јаглеводороден рецептор (AhR)

AhR е член на суперфамилијата на транскрипциски фактори кој се експресира во повеќето ткива и многу видови на клетки. Има разновидна улога кај цицачите, како на пример, регулаторна улога во развојот на ЦНС или модулација на одговорот кон ксенобиотици и оксидативниот стрес. AhR индуцира експресија на гени кои кодираат CYP1A1 и CYP1A2, два изоензими кои се способни метаболички да ги активираат хемиските канцерогени, вклучувајќи ги и оние со потекло од надворешната средина или добиени при подготовка на храната (пиролиза). Многу од овие супстанции се инертни сè додека не се метаболизираат преку CYP ензимите. Така, индукцијата на овие CYP ензими од страна на лекови потенцијално може да резултира со зголемување на токсичноста и канцерогеноста на проканцерогените ксенобиотици.

AhR агонистите (лиганди) може да се поделат на типични и нетипични. Меѓу типичните AhR агонисти се PHAH соединенија (како 2,3,7,8-тетрахлородибензо-*p*-диоксин (TCDD)), PAH соединенија (како 3-метилхолантрен и бензо[*a*]пирен) и различни киселинско-катализираны продукти на кондензација или UV-индуцирани деривати на природни индоли (како индол-3-карбинол и триптофан).

Посебен интерес претставува класата на соединенија кои содржат бензимидазол како што се лековите инхибитори на протонската пумпа, омепразол и лансопразол. Овие лекови се нетипични AhR агонисти од две причини. Прво, тие не се врзуваат за лиганд-врзувачкиот домен на AhR, но го активираат AhR или директно (преку врзување за второто место на AhR) или индиректно (преку активирање на тирозин киназата). Второ, тие го активираат AhR и ги индуцираат CYP1A ензимите кај

човекот, но не и кај стаорци или глупци, што е една од разликите меѓу животинските видови при активацијата на AhR преку ксенобиотици. Омепразол, како нетипичен, но сепак лиганд за AhR, може да предизвика индукција на CYP1A1 и CYP1A2, со можните последици од токсин/канцерогено активирање, како и лек-лек интеракции кај пациенти кои примаат агенси кои се супстрати за кој било од овие два CYP ензими. Постои сомневање околу тоа дали постои ендеген лиганд за AhR, бидејќи таков сè уште не е идентификуван. Примери за агонисти и антагонисти на овој рецептор се прикажани во табела 4.3.

4.3.2. Конститутивен андростански рецептор (CAR), прегнан X рецептор (PXR) и пероксизомски пролифератор-активиран рецептор-алфа (PPAR α) – Фамилија на јадрени рецептори 1

Овие рецептори се идентификувани врз основа на нивните структурни сличности со стероид-хормонските рецептори и првично биле наречени „рецептори сираци“ бидејќи не постојат ендегени лиганди за кои се знае дека ги активираат. Со дополнителни испитувања било откриено дека овие рецептори се активираат со ксенобиотици, вклучувајќи ги и лековите.

CAR и PXR се членови на фамилијата на јадрени рецептори 1 (NR1I2 и NR1I3, соодветно). За разлика од AhR, кој се експресира во повеќето ткива и типови на клетки, CAR и PXR се експресираат во релативно малку органи – црн дроб, тенко црево и дебело црево и само неколку типови на клетки. CAR и PXR се активираат преку неколку исти соединенија и обата димеризираат со RXR за да формираат ДНК-врзувачки протеини. Пради ова постои значителна комуникација помеѓу овие два ксеносензори и понекогаш може да биде тешко да се утврди дали индукцијата е посредувана преку CAR, PXR или и преку обата рецептори. Примери за агонисти и антагонисти на овие рецептори кои посредуваат во индукцијата на ензимите се дадени во табела 4.3.

Табела 4.3. Примери за агонисти и антагонисти на јадрените рецептори (AhR, CAR и PXR)

Рецептор	Агонисти			Антагонисти		
AhR		Човек	Глушец		Човек	Глушец
	Омепразол	Да	Не	Омепразол сулфид	Да	Не
	Ланзопразол	Да	Не			
	TCDD	Да	Да			
CAR		Човек	Глушец	Инверзни агонисти	Човек	Глушец
	Хлорпромазин	Не	Да	Хлорпромазин	Да	Не
	Клотримазол	Не	Да	Меклизин	Да	Не
	Меклизин	Не	Да			
	Фенобарбитал	Да	Да			
PXR		Човек	Глушец		Човек	Глушец
	Артемисинин	Да	Не	Кетоконазол	Да	Не е познато
	Клотримазол	Да	Не	Трабектедин	Да	Не е познато
	Хиперфлорин	Да	Да			
	Никардипин	Да	Не			
	Нифедипин	Да	Не			
	Фенобарбитал	Да	Да			
	Прегнан-16 α -карбонитрил	Да	Да			
	Рифампицин	Да	Не			

*разликите меѓу различните животински видови се дадени со различно обојување.

PXR, откриен врз основа на неговата способност да се активира од страна на синтетичкиот стероид прегнан-16 α -карбонитрил, се активира од голем број на лекови, вклучувајќи ги: антибиотиците (рифампицин и тролеандомицин), блокаторите на Ca²⁺ канали (нифедипин), статините (мевастатин), антидијабетиците (троглитазон), HIV протеазните инхибитори (ритонавир) и антиканцерните лекови (паклитаксел).

Хиперфлоринот, кој е компонента на жолтиот кантарион кој се користи како хербален лек при депресија (се издава без рецепт), исто така, го активира PXR. Ова е пример за активирање кој се смета за основна причина за зголемената неефикасност на оралните контрацептиви кај индивидуи кои истовремено примаат и билни препарати кои содржат жолт кантарион: активираниот PXR е индуктор на CYP3A4, изоформа која може да ги метаболизира стероидите од оралните контрацептиви.

PXR, исто така, индуцира и експресија на гени кои кодираат некои транспортери на лекови и ензими од Фаза 2 вклучувајќи ги сулфотрансферазите (SULT) и UGT ензимите. Затоа PXR е вклучен во метаболизмот и елиминацијата на ксенобиотици, вклучувајќи ги и лековите, со забележителни последици (слика 4.8).

Јадрениот рецептор CAR е откриен врз основа на неговата способност за активирање на гени во отсуство на лиганд. Стероиди како што се андростанол, антифунгалниот лек клотримазол и антиеметикот меклизин се инверзни агонисти кои го инхибираат генското активирање преку CAR, додека пестицидот 1,4-бис-[2-(3,5-дихлоропиридилокси)]-бензен, стероидот 5 β -прегнан-3,20-дион, а веројатно и други ендогени соединенија, се агонисти кои ја активираат генската експресија врзувајќи се со CAR.

Во гените кои се индуцираат со CAR се вклучуваат оние кои кодираат неколку различни CYP изоформи (CYP2B6, CYP2C9 и CYP3A4), различни ензими од Фаза 2 (вклучувајќи ги глутатион-s-трансфераза (GST), UGT и SULT) и транспортерите на лекови и ендобиотици. CYP3A4 е изоформа која се индуцира и од страна на PXR и од CAR и затоа нејзиното ниво е во многу зависно од присуството на голем број на лекови и други ксенобиотици. Во прилог на потенцијална улога во индукцијата на деградацијата на лекови (вклучувајќи го на пример и ОТС аналгетикот ацетаминофен), CAR рецепторот може да функционира и во контролата на деградацијата на ендобиотици како на пример билирубинот (процес со кој во црниот дроб се разградува хемот вклучен во молекулата на билирубин).

И PXR и CAR ксеносензорите имаат капацитет за врзување на голем број на лиганди. Како и кај метаболизирачките ензими, разлики меѓу животинските видови исто така постојат и во однос на овие рецептори.

На пример, рифампицин ги активира човечките PXR, но не и PXR рецепторите кај глушец или стаорец. Меклизин, првенствено ги активира CAR рецепторите кај глушец, но ја спречува индукцијата на гени од страна на човечките CAR рецептори. Овие факти упатуваат на заклучокот зошто моделните системи кај глодари не ги одразуваат целосно одговорите кон лекови кои се карактеристични за луѓето.

Поради комбинација на три фактори, CAR и PXR се најважните ксеносензори кај човекот во однос на лек-лек интеракциите:

(1) CAR и PXR регулираат неколку CYP ензими (на пример, CYP2B6, 2C8, 2C9, 2C19 и 3A4), конјугирачки ензими (некои од UGT и SULT) и транспортери на лекови (како Р-гликопротеин);

(2) голем број на ксенобиотици (лекови и хербални препарати) и одредени ендобиотици (како билирубин, жолчни киселини и витамин D₃) ги активираат CAR и/или PXR и

(3) некои од гените кои се регулираат преку CAR и PXR кодираат протеини со широка супстратна специфичност (како CYP3A4 и Р-гликопротеин), така што индукцијата посредувана преку CAR и PXR влијае на судбината на голем број на ксенобиотици кои влегуваат во организмот.

Во однос на лек-лек интеракциите, ксеносензорите кај човекот можат да бидат рангирани по важност како што следи: **CAR/PXR>AhR>PPAR α** .

AhR е помалку важен од CAR/PXR бидејќи постојат релативно малку лекови кои го активираат и бидејќи главниот хепатален ензим кој се регулира преку AhR (CYP1A2), има поограничена улога во метаболизмот на лековите отколку останатите хепатални и интестинални CYP изоензими регулирани преку CAR/PXR (CYP2B6, 2C8, 2C9, 2C19, и 3A4).

Фамилијата на пероксизомски пролифератор-активирани рецептори (PPAR) се состои од три члена, α , β и γ . PPAR α е целно место за класата на фибрати од антихиперлипидемичните лекови, вклучувајќи ги широко препишуваните лекови гемфиброзил и фенофибрат.

Додека активирањето на PPAR α резултира со индукција на целни гени кои кодираат ензими кои метаболизираат масни киселини (што резултира со намалување на серумските триглицериди), исто така, индуцира и CYP4 ензими кои се одговорни за оксидацијата на масни киселини и лекови што содржат странични ланци од масни киселини, какви што се аналозите на леукотриен и арахидонската киселина.

Разликата меѓу ксено- и ендобиотичките сензорни функции е особено нејасна во случајот на PPAR α рецепторот, кој се активира преку ендогени масни киселини (на пример, арахидонска киселина), еикосаноиди и конјугирани стероиди, но исто така и од голем број ксенобиотици со киселински својства како претходно наведените антихиперлипидемични лекови – фибрати (на пример, клофибрат, фенофибрат, ципрофибрат), различни НСАИЛ (аспирин), леукотриен-рецепторни антагонисти, органски растворувачи (трихлорооцетна киселина), хербициди (халоксифаб, лактиофен, 2,4-дихлорофеноксоцетна киселина или 2-D), никотинска киселина и потентниот и широко користен експериментален PPAR α агонист Wy – 14643.

Кога се активира со лиганд и образува комплекси со RXR, PPAR α ја активира транскрипцијата на неколку гени кои кодираат пероксизомални ензими вклучени во β -оксидацијата на масни киселини (вклучувајќи масна ацил-CoA-оксидаза, еноил-CoA хидратаза/3-хидроацил-CoA дехидрогеназа) и масно-киселински врзувачки протеини. Кај глодарите, овој процес е асоциран со пролиферација на пероксизомите и хепатомегалија, што е причината зошто ксенобиотиците кои го активираат PPAR α често се нарекуваат пероксизомални пролифератори. Зголемената пероксизомална деградација на масните киселини е механизам преку кој антихиперлипидемичните лекови – фибрати го намалуваат фондот на масен ацил-CoA потребен за синтеза на триглицериди, но не е јасно токму каде во телото се случува оваа зголемена пероксизомална деградација на масните киселини.

За разлика од агонистите на други ксеносензори, PPAR α агонистите не се наведуваат како причина за лек-лек интеракции, но тие се предмет на интерес од перспектива на промоцијата на развој на тумори.

5. ЕНЗИМСКА ИНДУКЦИЈА И ХЕМИСКА КАНЦЕРОГЕНЕЗА

Канцер е болест на клеточна мутација, пролиферација и несоодветен клеточен раст. Терминот „канцер“ го опишува збирот на неоплазии, што го претставуваат малигните неоплазми. Тој е рангиран како една од водечките причини за смртност во светот. Голем број на фактори се вклучени во индукцијата на канцер кај луѓето. Инфективните агенси, начинот на живот, медицинските третмани, животната средина и професионалната изложеност директно или индиректно имаат врска со појавата на поголемиот дел од канцерите кои се среќаваат кај луѓето.

Канцероген е агенс, хемиски или физички, што предизвикува или поттикнува неоплазија. Канцерогени може да бидат ксенобиотици, вируси, хормони, зрачење или цврсти материјали. Канцерогените или продуцираат нов неопластичен раст во ткивото или органот или пак ја зголемуваат инциденцата и/или мултиплицирањето на позадинските спонтани неопластични формации во целните ткива.

Канцерогените може да бидат **генотоксични**, што значи дека комуницираат физички со ДНК и ја оштетуваат или менуваат нејзината структура. Другиот тип канцерогени може да го променат начинот како ДНК ги експресира информациите без менување или директни промени во нејзината структура, или може да направат клетката или ткивото да бидат повеќе подложни на оштетување на ДНК од страна на други извори. Ксенобиотиците кои припаѓаат на оваа втора категорија се познати како **негенотоксични канцерогени**.

Развојот на неоплазијата бара две големи случувања: формирање на активирана, мутирана клетка и селективно размножување на мутираните клетки за да се формира неоплазма. И двата настани може да бидат предизвикани или да се случат под дејството на хемиските канцерогени.

Хемикалиите кои индуцираат канцер врз основа на нивната релативна способност да реагираат со геномската ДНК се класифицирани во една од двете категории:

- 1) генотоксични или ДНК – реактивни и
- 2) негенотоксични или епигенетски канцерогени.

Генотоксичните канцерогени иницираат тумори преку предизвикување на оштетувања на ДНК. Експерименталните и епидемиолошките следења направени во средината на 20-иот век идентификувале голем број на хемикалии кои можат да предизвикаат канцер кај луѓето или експерименталните животни. Канцерогените од јагленовиот катран вклучувајќи го бензо(а)пиренот, пестицидите (како што е 2-ацетиламинофлуорин) и азо-боите (како што е диаминобензамид), биле меѓу првите проучувани хемиски канцерогени.

ДНК реактивните канцерогени може да бидат понатаму поделени според тоа дали се активни во нивните матични форми (т.е. директно дејствуваачки канцерогени - агенси кои можат директно да се врзат за ДНК без претходно да се метаболизираат) и оние за кои е потребна метаболитичка активација (односно, индиректно дејствуваачки канцерогени - соединенија кои треба да се метаболизираат со цел да реагираат со ДНК).

Бројни ксенобиотици (кои предизвикуваат тумори кај експериментални животни после хроничен третман) веројатно дејствуваат преку механизми што не вклучуваат директно врзување, оштетување или интеракција на хемикалијата или нејзините метаболити со ДНК и овие агенси се означени како негенотоксични канцерогени. За разлика од ДНК-реактивните генотоксични ефекти, овие ДНК-нереактивни механизми може да бидат уникатни за определениот ксенобиотик. Типичен пример за ваков механизам на дејство (меѓу неколкуте кои се идентификувани како на пример, цитотоксичност, хормонско посредување или оксидативен стрес) во развојот на хемиската канцерогенеза се рецепторно посредуваните ефекти преку ензимска индукција со учество на CAR, PPAR α или AhR рецепторите.

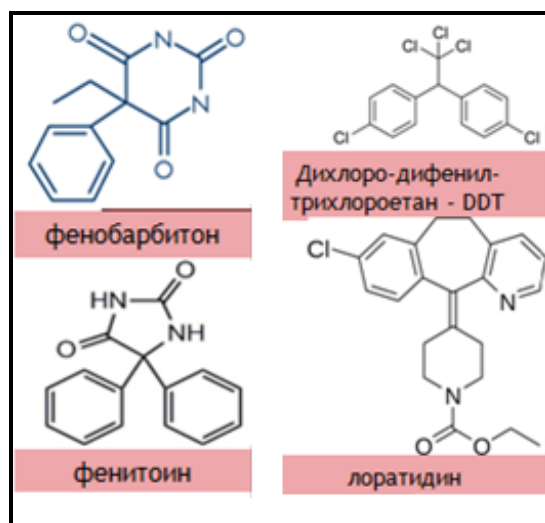
5.1. Конститутивен андростански рецептор (CAR) и хемиска канцерогенеза. P450 Индуктори: Канцерогени слични на фенобарбитон

Фенобарбитон (слика 5.1) е најчесто проучувано реактивно соединение кое не реагира со ДНК и за кое е познато дека предизвикува тумори по негенотоксичен механизам (вклучувајќи и хиперплазија на црниот дроб). Една карактеристика која е забележана при следење на изложеност на фенобарбитон е индукција на P450 ензимите, особено CYP2B. Бидејќи е познато дека голем број на различни хемикалии може да предизвикаат индукција на разни членови на P450 фамилијата (на пример, диелдрин, етанол, TCDD), доведена е во прашање специфичноста на овој ефект на канцерогенезата.

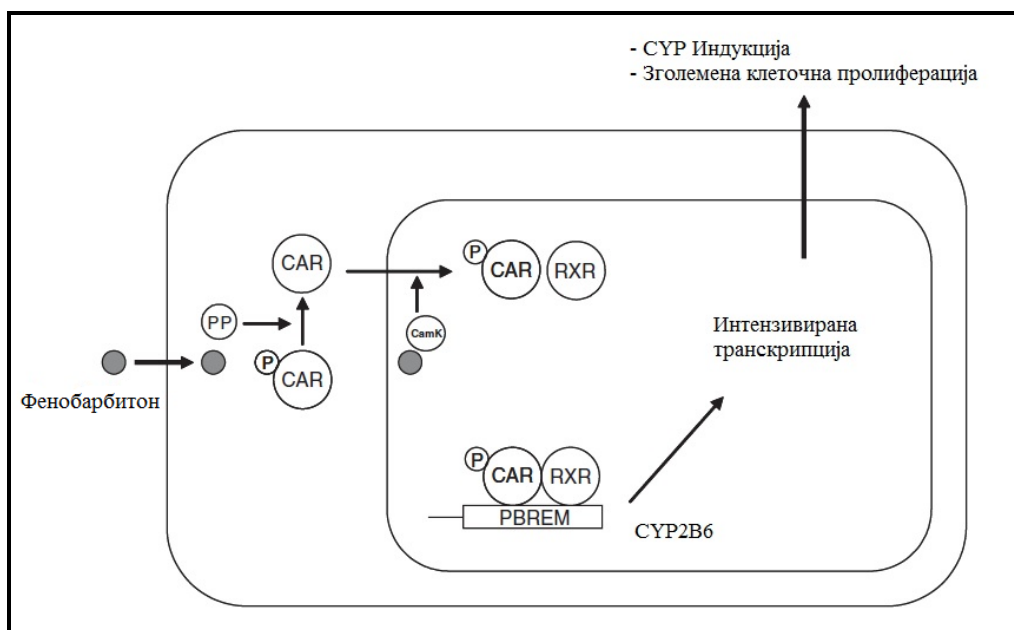
Последните истражувања во областа покажуваат дека индукцијата на CYP2B е посредувана со активирање на CAR рецепторот, член на семејството на јадрени рецептори 1. Интересен е фактот дека глумците без CAR рецептори (CAR-нокаут глумци) не покажуваат индукција на CYP2B после изложеност на фенобарбитон. Други одговори кои се добиваат како резултат на изложеност на фенобарбитон, а се критични за формирањето на тумор се зголемување на клеточната пролиферација, инхибиција на апоптозата, инхибиција на меѓуклеточната комуникација, хипертрофија и развој на пренеопластични фокални лезии во црниот дроб. За сите овие ефекти е покажано дека се CAR-зависни (слика 5.2).

Фенобарбитон е претставник на групата со голем број на ксенобиотици за кои е веројатно дека промовираат формирање на тумори на црниот дроб кај стаорци или глумци преку епигенетски механизам, вклучувајќи ги и фенитоин, карбамазепин, хлородекон, бутилиран хидрокситолуен, DDT, диелдрин, хексахлорциклохексан, одредени полихлорирани и полибромирани бифенили, лоратадин, доксиламин, ланзопразол и други (слика 5.1).

Иако точниот механизам на формирање на тумори останува непознат, истиот критично зависи од активацијата на CAR, што е потврдено и со наодот дека фенобарбитон и сличните соединенија не функционираат како тумор промотори кај CAR-нокаут глумците. Друга карактеристика е фактот дека фенобарбитон и сличните соединенија предизвикуваат тумори на црниот дроб само при дози кои предизвикуваат проширување на црниот дроб како резултат на зголемување на бројот на клетките (хепатоцелуларна хиперплазија) и големината на клетките (хепатоцелуларна хипертрофија), индукција на ензими (на пример, CYP2B ензими) и прогресивно зголемување на тежината на црниот дроб.



Слика 5.1. Структурни формули на фенобарбитон и други канцерогени иницијатори слични на фенобарбитон



Слика 5.2. Предложен механизам за вклучување на CAR рецепторот во промените на генската експресија индуцирани од фенобарбитон

Легенда: PP – протеин фосфатаза; CamK – CaM киназа; RXR – ретиноиден рецептор; PBREM – клеточен елемент одговорен за фенобарбитал. После дефосфорилација на CAR од страна на протеин фосфатазата истиот ја минува клеточната мембрана и се фосфорилира под дејство на CaM киназата. Тогаш формира димери со RXR и се врзува за PBREM, што резултира со зголемување на генската експресија.

5.2. Пероксизомски пролифератор активирачки рецептор-алфа (PPAR α) и хемиска канцерогенеза

Широк спектар на хемикалии имаат способност за индуцирање на зголемување на бројот и обемот на пероксизомите во цитоплазмата на клетките. Во овие хемикалии, наречени пероксизомски пролифератори, се вклучуваат хемикалии како што се хербициди, хлорирани растворувачи (на пример, трихлороетилен и перхлороетилен), пластификатори (на пример, диетилхексилфталат и други фталати), лековите од групата на фибрати (на пр. ципрофибрат, клофибрат) и некои природни производи.

Покрај тоа, многу од овие хемикалии продуцираат и зголемување на црниот дроб и хепатоцелуларен карцином кај стаорци и глувци преку ДНК-нереактивни механизми. Појавата и на други два типа на тумор исто така е поврзана со изложеност на пероксизомски-пролиферирачки соединенија: тумори на Лајдиговите клетки и ацинарни-клеточни тумори на панкреасот испитувани кај стаорци.

Истражувањата спроведени со *in vivo* или *in vitro* примарни клеточни култури на хепатоцити покажуваат значајни меѓувидови разлики во хепаталните пероксизомални пролиферативни одговори кон хемикалиите во рамките на оваа класа соединенија. Стаорците и глувците се животинските видови кои најизразено одговараат, додека приматите и морското прасе се покажале како видови кои не одговараат.

Во моментот прифатениот механизам на дејство за оваа класа на хемикалии, вклучува врзување на агонисти со јадрениот хормонски рецептор, PPAR α за овие хемикалии да предизвикаат пероксизомална пролиферација и туморогенеза кај глодари. Бидејќи луѓето се изложени на голем број хемикалии кои се PPAR α лиганди,

под испитување е релевантноста на овој механизам на дејствување и кај човекот. Иако се очекува дека ќе се појават истите овие ефекти и кај изложената човечка популација, забележани се неколку разлики меѓу видовите, вклучувајќи го и тоа што нема индукција на клеточната пролиферација кај приматите и фактот дека бројот на PPAR α рецепторите во човечкиот црн дроб е барем десеткратно понизок во споредба со бројот кај стаорците или глувците.

Поради овие факти се смета дека веројатноста за појава на овој тип тумори кај човекот е многу мала или дури и не постои. Активацијата на PPAR α е потребна, но очигледно не е доволна, за да доведе до промоција на тумор.

Други клучни настани кои се вклучуваат во овој процес е зголемената продукција на оксиданси (како зголемена пероксизомална продукција на H₂O₂), зголемената клеточна пролиферација и супресијата на апоптозата (што го блокира отстранувањето на генетски оштетените клетки и овозможува клонална експанзија). Веројатно е дека Купферовите клетки играат значајна улога во формирањето на тумори на црниот дроб преку ослободување на митогени цитокини и преку придонес во оксидативниот стрес преку ослободување на супероксид анјон, иако не е сосема разјаснето како PPAR α агонистите ги индуцираат овие реакции.

5.3. Арил јаглеводороден рецептор (AhR) и хемиска канцерогенеза

Агонистите на AhR, вклучувајќи ги TCDD и определени претставници од класата на полихлорирани- и бромирани бифенили (PCB и PBB), се поврзани со развојот на тумори и најверојатно функционираат како хепатални тумор-промотори. Утврдено е дека туморниот одговор, т.е. формирањето на тумори при изложувањето на овие ксенобиотици е AhR зависно.

После врзувањето на лигандот за AhR, лиганд-врзаните AhR се транслоцираат во јадрото, димеризираат со Ah-рецепторниот јадрен транслокатор (ARNT) и се врзуваат за арил-јаглеводородните елементи на одговор [ARE, исто така познати и како диоксин елементи на одговор (DRE) и ксенобиотските елементи на одговор (XRE)]. AhR-ARNT-зависните гени вклучуваат гени кои кодираат ензими важни за метаболитичкото активирање како и детоксикацијата на хемикалиите како што се членовите на семејството на цитохром P450, NAD(P)H:кинин оксидоредуктаза, цитозолната алдехидна дехидрогеназа 3, UDP-глукуронозилтрансферазата и глутатион-s-трансферазата. Глувците без AhR покажуваат намален одговор кон индукцијата на тумор од AhR лигандите, и обратно, оние кои конститутивно имаат преекспресирани AhR, резултираат со зголемување на инциденцата на тумори на црниот дроб.

6. ФАЗА II ОД МЕТАБОЛИЗМОТ НА ЛЕКОВИ – РЕАКЦИИ НА КОНЈУГАЦИЈА

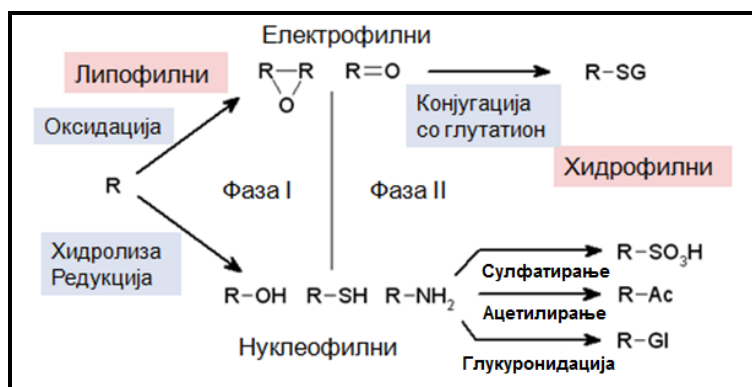
6.1. Вовед

Иако оксидацијата од Фаза I се смета како најважниот ограничувачки процес за метаболитичката трансформација на соединенијата, постојат голем број на фармацевтски агенси, кои пред сè, се метаболизираат од страна на ензимите од Фаза II, како на пример, НСАИЛ, трицикличните антидепресиви, β_2 -агонистите и некои анти-ХИВ лекови. Препознавањето на овој факт ја наметнува потребата од повеќе детални и сеопфатни информации и проучување на природата на индивидуалните ензими од Фаза II и нивните каталитички својства. Проучувањето и знаењето за нив заостанува зад познатите информации достапни за CYP ензимите и затоа е многу важно да се идентификуваат специфичните изоформи во рамките на семејствата на ензимите вклучени во Фаза II од метаболизмот на нови хемиски соединенија, особено во поглед на нивната употреба во мултимедикаментозната терапија кај различните популации на пациенти.

Постојат различни конјугациски ензимски системи од Фаза II кои ги напаѓаат функционалните групи, како што се $-OH$, $-COOH$, $-NH_2$, $-SH$, кои се или природно присутни на целните молекули или генерирани од страна на оксидативниот метаболизам од Фаза I. Додека метаболитичките реакции од Фаза II обично генерираат хидрофилни метаболити кои лесно се излачуваат во урината или во жолчката, треба да се забележи дека ваквиот метаболизам, исто така, може да доведе и до формирање на реактивни, потенцијално токсични метаболити кои можат да се врзат ковалентно со ткивните макромолекули.

Кога се разгледува опсегот на ензимите од Фаза II, од значење е исто така да се спомене и нивната улога во метаболизмот и на ендогените супстрати. Со оглед на тоа дека претставниците од CYP ензимите вршат високо селективни, специфични реакции (на пр., CYP вклучени во биосинтезата на холестеролот), истите ензими од Фаза II кои се вклучени во метаболизмот на ксенобиотиците често метаболизираат и голем број на ендогени супстрати (како што се билирубин, стероиди и биогени амини). Затоа возможно е да се предвидат ситуации во кои и ксенобиотиците и ендобиотиците можат да се натпреваруваат за истиот метаболитички пат од Фаза II.

Ксенобиотиците и ендобиотиците се подложни на метаболизам катализиран од ензимите од Фаза I (функционализација) и Фаза II (конјугација). За некои соединенија, метаболизмот од Фаза I се случува пред реакцијата во Фаза II да биде можна, но во некои случаи производите од Фаза II подлежат на понатамошен метаболизам со Фаза I (на пр. сулфонирани стероиди) (слика 6.1). Табела 6.1 ги прикажува ензимите кои учествуваат во Фаза II. Реакциите од Фаза II обично резултираат со генерирање на повеќе поларни, полесно екскретибилни соединенија кои во голема мера се ослободени од значајна фармаколошка или токсиколошка активност.



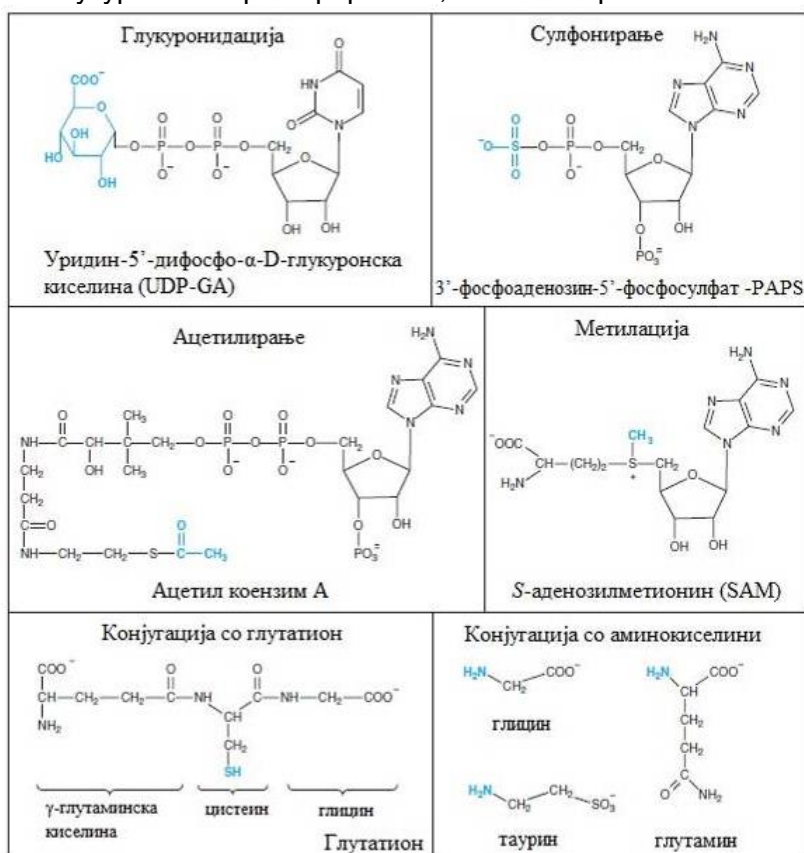
Слика 6.1. Метаболизам на ксенобиотици катализиран од ензимите од Фаза I (функционализација) и Фаза II (конјугација)

Табела 6.1. Ензими од Фаза II и функционални групи со кои стапуваат во реакција

Ензим	Реакција	Функционална група
UDP-глукуронозилтрансфераза	Глукуронидација	-OH, -COOH, -NH, -NOH, -NH ₂ , -SH, N во прстен;
UDP-глюкозилтрансфераза	Глукозидација	-OH, -COOH, -SH
Сулфотрансфераза	Сулфатирање	-OH, -NH, -NOH, -NH ₂
Метилтрансфераза	Метилација	-OH, -NH ₂
Ацетилтрансфераза	Ацетитирање	-OH, -NH ₂ , -SO ₂ NH ₂
Повеќе различни ензими	Конјугација	-COOH
Глутатион-S-трансфераза	Конјугација со глутатион	Епоксиди, органо-халиди

Кофакторите за реакциите на конјугација, прикажани на слика 6.2, реагираат со функционалните групи кои се или присутни во молекулата на ксенобиотикот или се воведени/изложени во текот на реакциите од Фаза I. Со исклучок на метилацијата и ацетитирањето, конјугациските реакции резултираат со големо зголемување на хидрофилноста на ксенобиотикот, со што во голема мера го промовираат излачувањето на туѓите хемикалии. Конјугациските реакции обично вклучуваат активирање на метаболитот од страна на високо-енергетски интермедиери или активирани „високо-енергетски“ кофактори, па затоа се класифицираат на два општи типа: **Тип I** (глукуронидација, сулфатирање, ацетитирање и метилација) во кои еден активан конјугациски агенс се комбинира со супстратот за да се добие конјугираниот производ и **Тип II** реакции (конјугација со аминокиселини и глутатион) во кои супстратот се активира, а потоа се комбинира со аминокиселина за да се добие конјугиран производ.

Повеќето ензими вклучени во конјугацијата се лоцирани во цитозолот при што исклучок се UDP-глукуронозилтрансферазите, кои се микрозомални ензими.

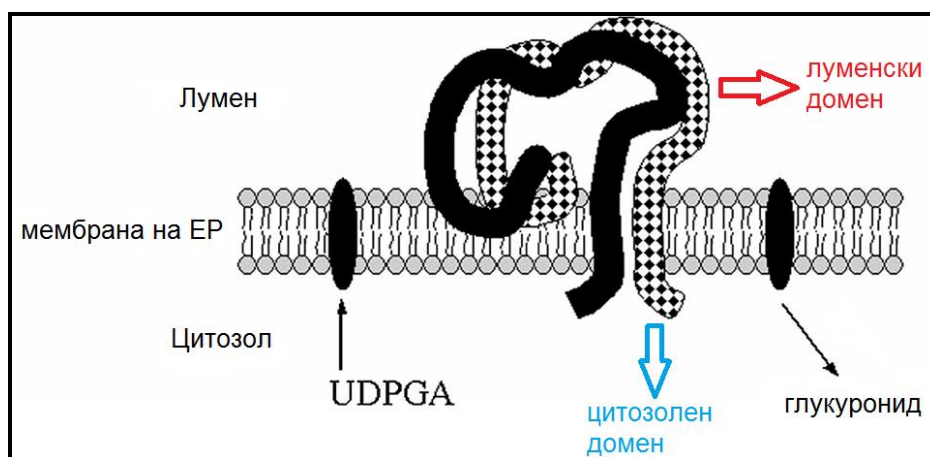


Слика 6.2. Структури на кофактори за конјугациски реакции (функционалната група која реагира или се пренесува на ксенобиотикот е покажана со сина боја)

6.2. Глукуронидација (конјугација со D-глукуронска киселина)

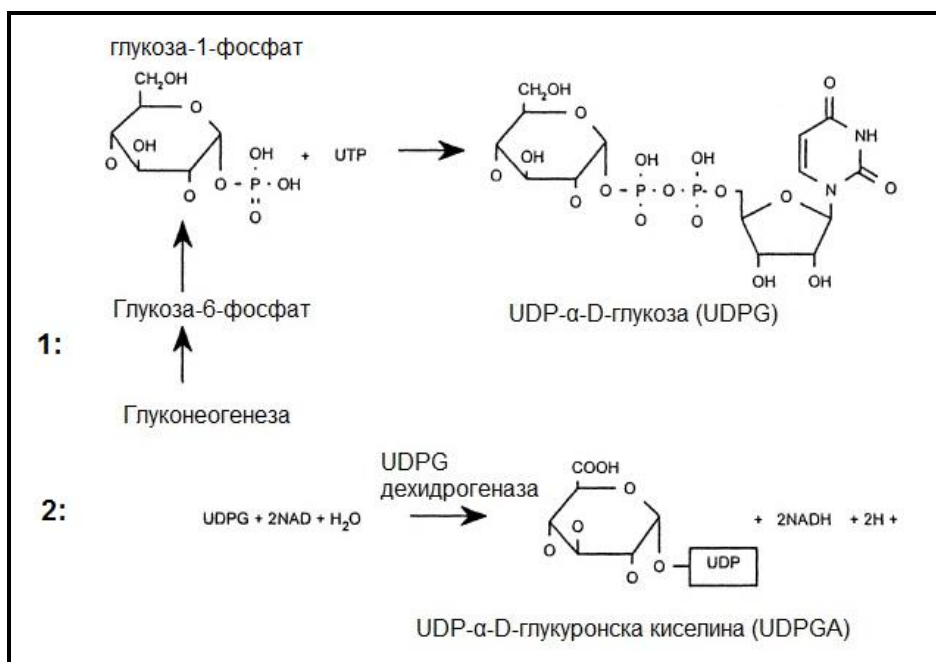
Глукуронидацијата е главната патека на Фаза II од метаболизмот на ксенобиотиците кај цицачите (освен за членовите на фамилијата на мачки – лавови, рисови и домашни мачки). Вклучува трансфер на D-глукуронска киселина на акцепторниот супстрат. Ваквите конјугациски реакции се катализираат од страна на семејството на ензими наречени **уридин дифосфат (UDP)-глукуронозил трансферази** или **UGT**.

UDP-глукуронозилтрансферазите се мембрански врзани протеини лоцирани на мембраната на ендоплазматичниот ретикулум (ЕР) и нуклеусот на клетките (слика 6.3). Во највисока концентрација се наоѓаат во црниот дроб, но исто така се присутни и во многу други ткива вклучувајќи ги тенкото црево, бубрезите, белите дробови и кожата. Повеќето UGT се способни за глукуронидација на широк спектар на ксенобиотици, но покажуваат поголема специфичност за ендогени соединенија (на пример, естрогени, андрогени, билирубин) кои обично реагираат со само една специфична форма на UGT.



Слика 6.3. Структура и локализација на UGT ензими

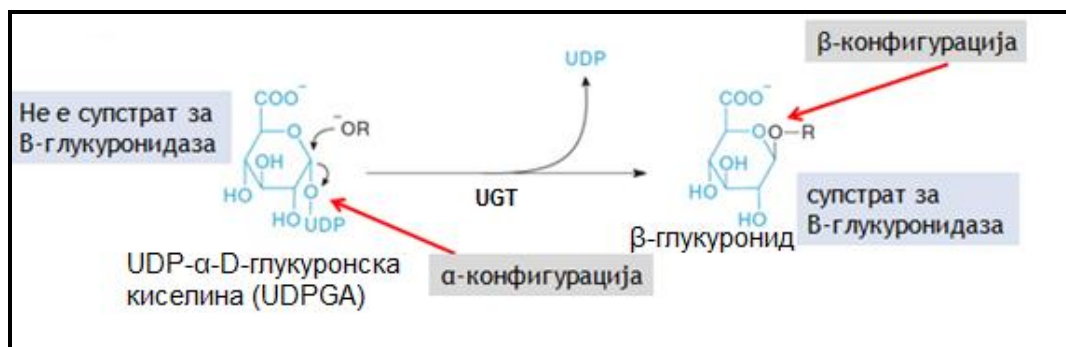
За одвивање на глукуронидацијата задолжително е присуството на кофактор **уридин-5'-дифосфо- α -D-глукуронска киселина (UDPGA)** која се синтетизира од глюкоза-1-фосфат и уридин трифосфат (UTP) во двофазна реакција (слика 6.4). Производ на првата реакција е UDP-глюкоза (UDPG) која потоа во втората реакција се оксидира од ензимот UDPG-дехидрогеназа до добивање на UDPGA.



Слика 6.4. Синтеза на UDPGA

Во молекулата на кофакторот за глюкуронидација, UDPGA, врската помеѓу глюкуронската киселина и UDP се наоѓа во α-конфигурација (слика 6.5). Оваа конфигурација го штити кофакторот од хидролиза во реакција катализирана од ензимот β-глюкуронидаза. Добиените ксенобиотик-глюкурониди се во β-конфигурација. Оваа инверзија на конфигурацијата се случува бидејќи глюкуронидите се формираат со нуклеофилен напад преку електрон-богати атоми (обично O, N или S атоми) врз UDPGA и овој напад се случува на спротивната страна на врската помеѓу глюкуронската киселина и UDP (слика 6.5). Спротивно на UDPGA кофакторот, ксенобиотиците конјугирани со глюкуронска киселина (глюкурониди) се супстрати за β-глюкуронидазата. Иако е присутна во лизозомите на некои ткива кај цицачите, значителна активност на β-глюкуронидазата е присутна и во цревната микрофлора. Интестиналниот ензим може да го ослободи агликонот, кој може да биде реапсорбиран и со тоа повторно да навлезе во циклус наречен *ентерохепатална циркулација*, кој што циклус всушност е важна причина за одложена елиминација на некои ксенобиотици (меѓу кои и многу лекови).

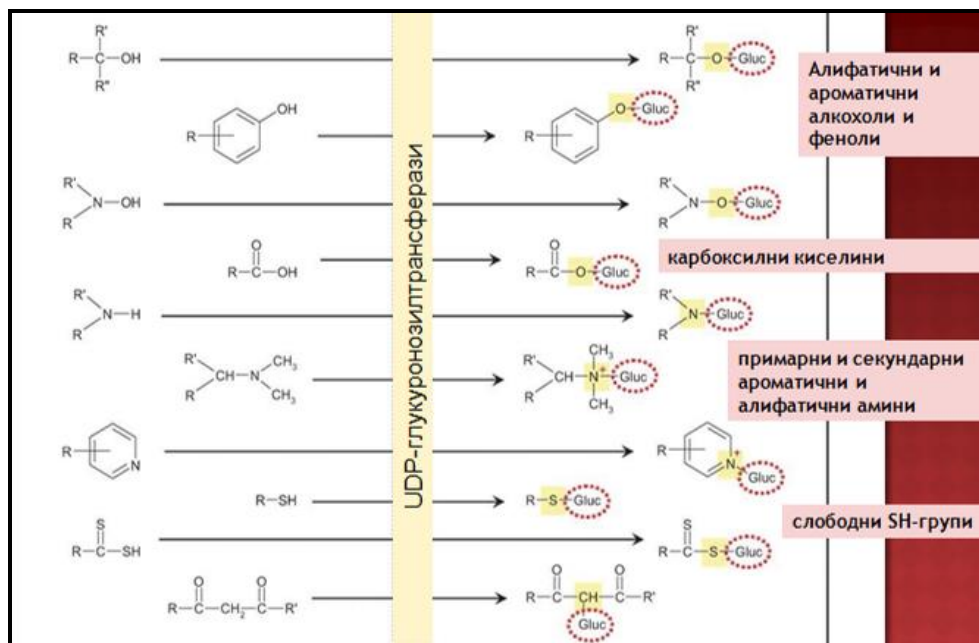
N-глюкуронидите побавно се хидролизирани преку β-глюкуронидазата отколку O- и S-глюкуронидите, додека O-глюкуронидите имаат тенденција да бидат постабилни при киселинско-катализираната хидролиза од N-или S-глюкурониди.



Слика 6.5. Инверзија на конфигурацијата (α → β) за време на глюкуронидација на фенолен ксенобиотик (означен како RO⁻)

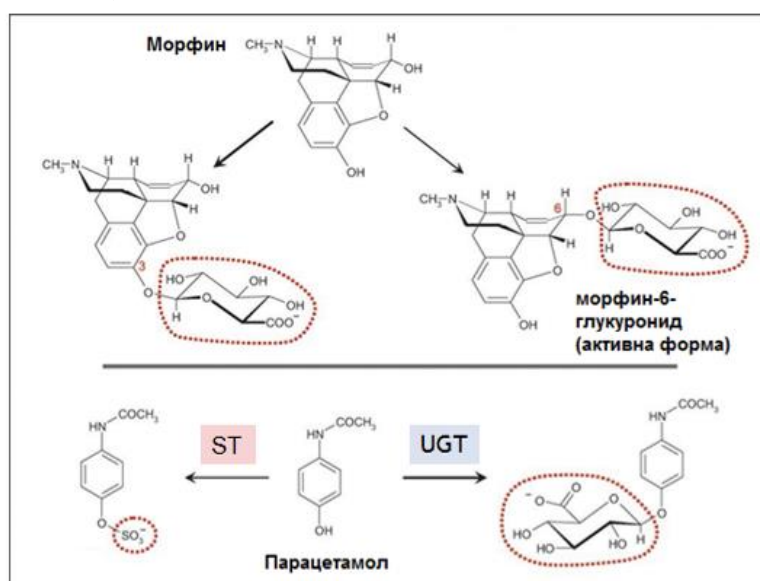
Местата за глюкуронидација се главно електрон-богатите нуклеофилни О, N или S хетероатоми во молекулата. Затоа, супстратите за глюкуронидација (слика 6.6) содржат функционални групи како:

- 1) алифатични алкохоли и феноли (формираат О-глюкуронид етери),
- 2) карбоксилни киселини (формираат О-глюкуронид естери),
- 3) примарни и секундарни ароматични и алифатични амини (формираат N-глюкурониди) и
- 4) слободни сулфхидрилни групи (формираат S-глюкурониди).

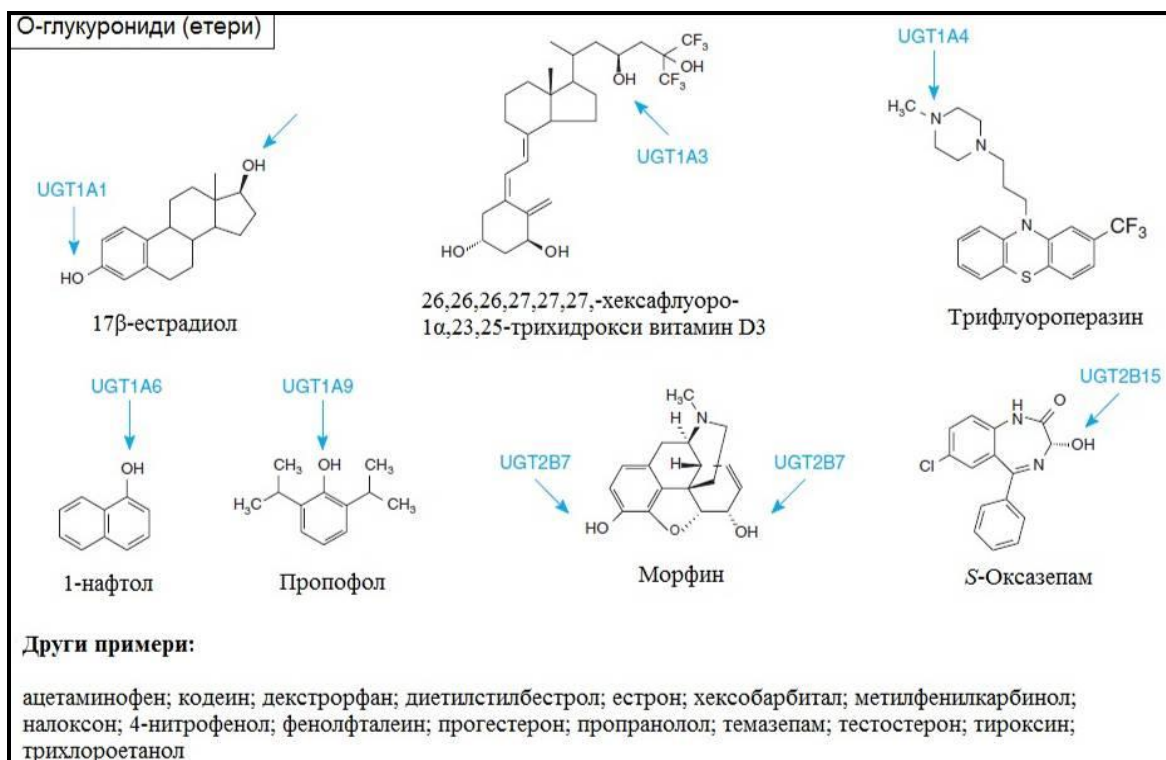


Слика 6.6. Примери за типови на нуклеофилни глюкурониди кои може да се формираат при реакциите на глюкуронидација

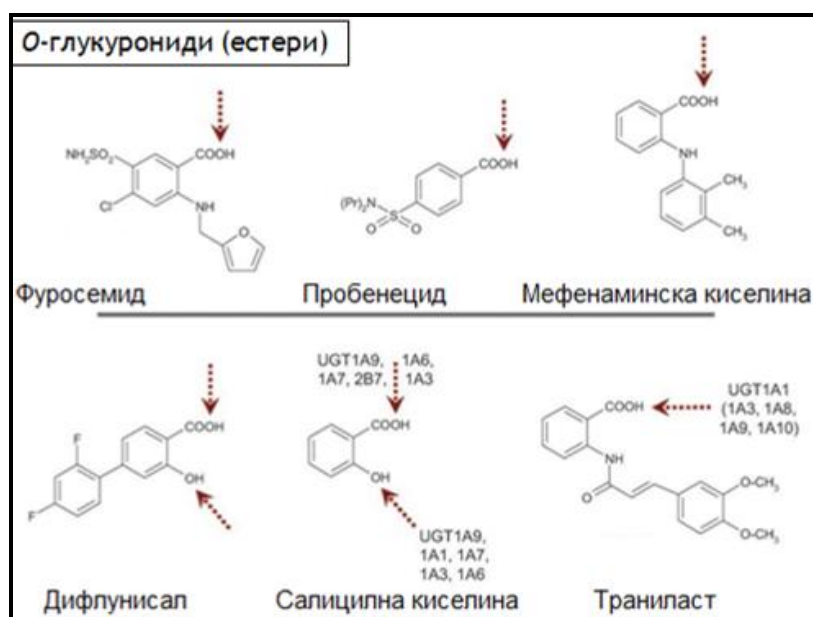
Примери за реакции на О-глюкуронидација на важни лекови (со фенолна функционална група) се покажани на слика 6.7. Формирањето на о-глюкуронидни етери или естери во зависност од функционалната група присутна во молекулата на лекот се прикажани на слики 6.8, 6.9 и 6.10.



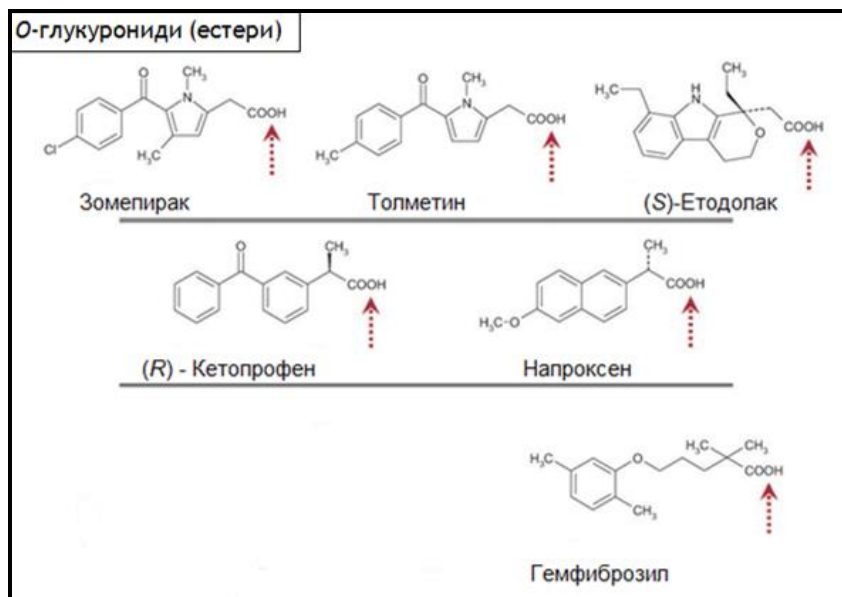
Слика 6.7. Реакции на О-глюкуронидација на важни лекови (кои содржат фенолна функционална група)



Слика 6.8. Примери за ксенобиотици и ендогени супстрати кои подлежат на глюкуронидна конјугација и добивање на о-глюкурониди (етери)



Слика 6.9. Примери за О-глюкуронидација (добивање на естери) на важни лекови – карбоксилни киселини (деривати на ароматични киселини (бензоева киселина))

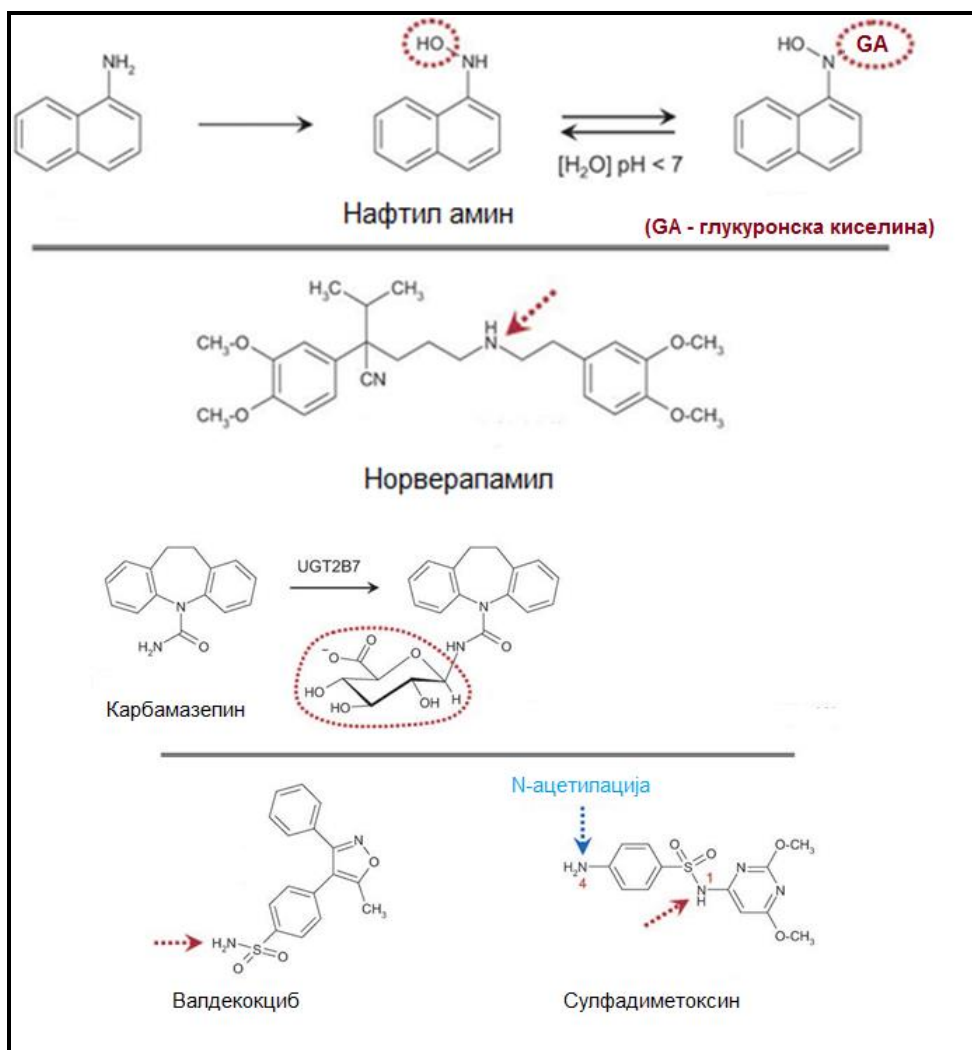


Слика 6.10. Примери за О-глукуронидација (добивање на естери) на важни лекови – карбоксилни киселини (деривати на арилалкански (ароматичен прстен супституиран со странична алканска верига) киселини)

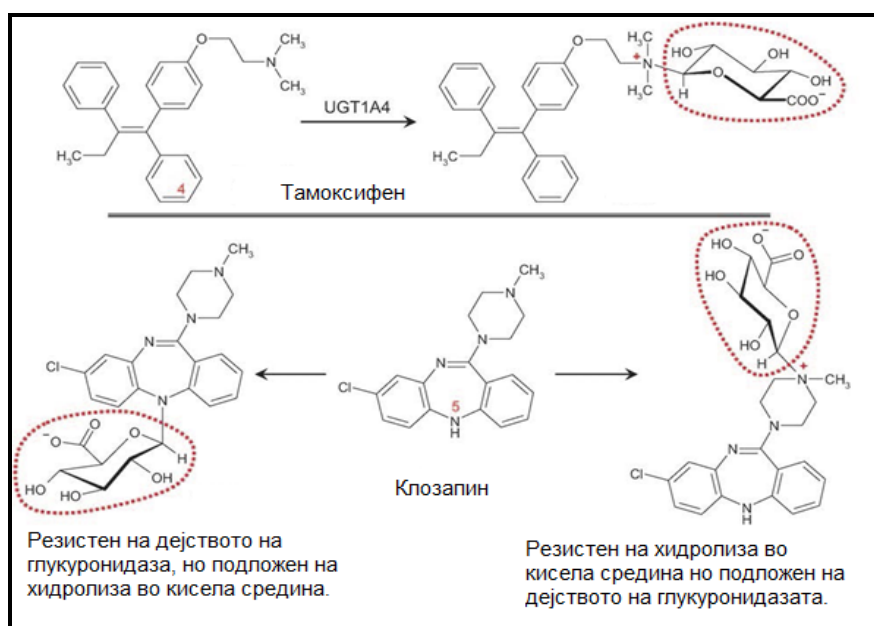
Лековите кои во својата структура содржат примарни или секундарни ароматични или алифатични amino групи при реакции на конјугација катализирани од UGT во присуство на кофакторот UDPGA формираат N-глукурониди.

Глукуронидацијата на лековите-амини (но и на други ксенобиотици) вклучува формирање на кватернерни N-глукурониди и привлекува големо внимание, бидејќи многу лекови во својата структура имаат имидазолан или пак тетразолан прстен (слики 6.11 и 6.12).

Кај луѓето (но исто и кај други животински видови како мајмуните), повеќе од 30 терциерни амини (вклучувајќи трипеленамин, циклобензаприн и имипрамин) се супстрати за N-глукуронидација која штоводи до формирање на позитивно наелектризиран кватернерни глукурониди, од кои некои можат да бидат и канцерогени.

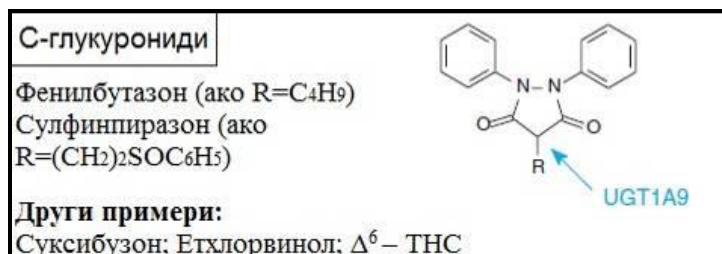


Слика 6.11. N-глюкуронидација на ксенобиотици – примарни и секундарни амини



Слика 6.12. N-глюкуронидација на лекови – терциерни амини (пример на терциерни ароматични алкил амини)

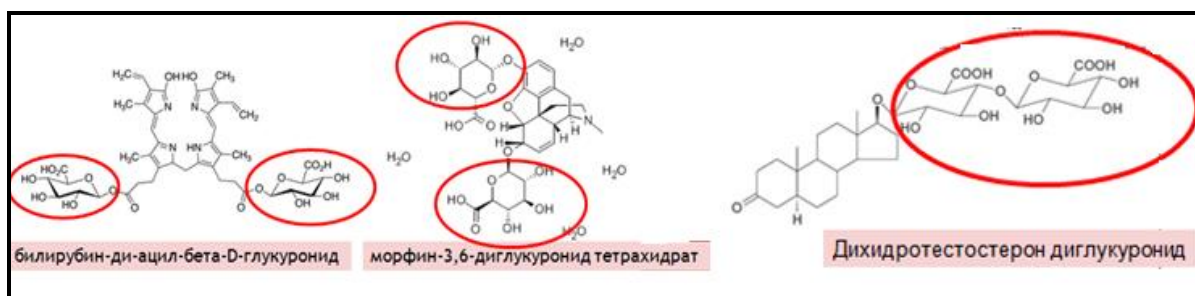
Одредени ксенобиотици, како фенилбутазон, сулфинпиразол, Δ^6 -тетрахидроканабинол и фепазон, содржат јаглеродни атоми кои се доволно нуклеофилни за да формираат и С-глукурониди (слика 6.13). С-глукуронидацијата на енолната форма на фенилбутазон се катализира исклучиво само преку UGT1A9 изоформата.



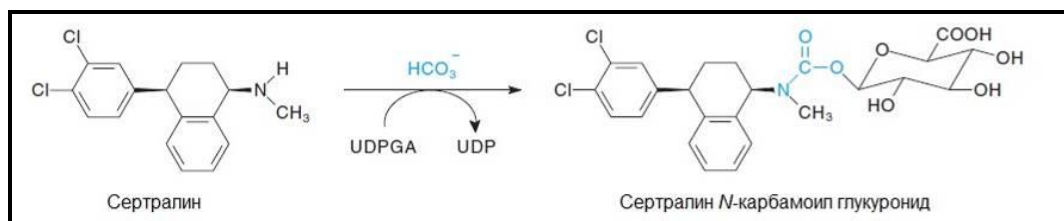
Слика 6.13. Пример за С-глукуронидација

Дополнително на типичните реакции на глукуронидација кои се наведени погоре, UGT ензимите може да формираат и невообичаени конјугати и тоа:

- 1) бис- и ди-глукурониди (на пример, билирубин, морфин, дихидротестостерон), каде има конјугација на две различни функционални групи на иста молекула, или два глукурониди се прикачуваат во тандем на едно место (слика 6.14),
- 2) N-карбамоил глукурониди (на пример, сертралин и вареницилин), каде во глукуронидот се инкорпорира карбамоилна група (слика 6.15) и
- 3) гликозидација со UDP-шеќери различни од UDP-глукуронска киселина (на пример, гликозилирање на барбитурати).



Слика 6.14. Примери за бис- и ди-глукурониди



Слика 6.15. Примери за невообичаени N-карбамоилни глукуронидни конјугати

Глукуронидните конјугати на ксенобиотиците и ендогените соединенија се поларни, водо-растворливи метаболити кои се елимираат од телото преку урината или жолчката. Дали глукуронидите ќе се екскретираат во жолчката или урината зависи, делумно, од големината на молекулата на агликонот (структурата на родителското соединение или конјугираниот метаболит).

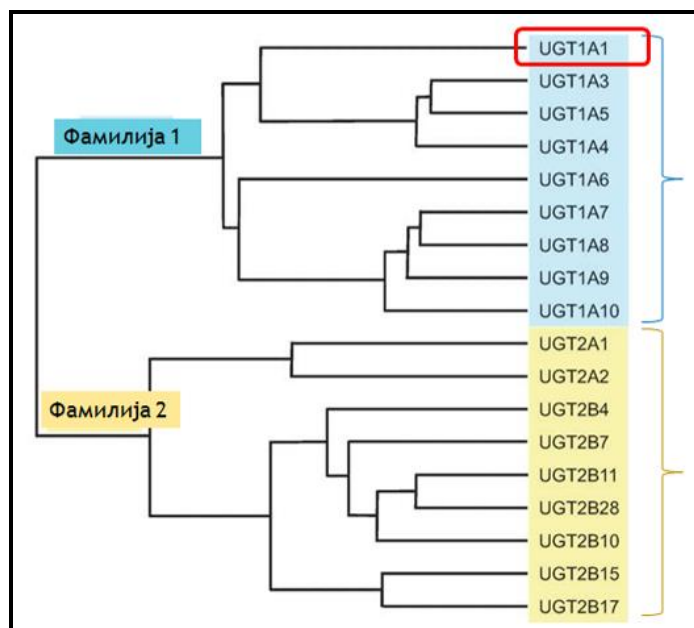
Кај стаорците (од класата на глодари), глукуронидите првенствено се екскретираат во урината ако молекулската маса на агликонот е помала од 250 Da,

додека глюкуронидите на поголемите молекули (агликони со молекулска маса >350 Da) се екскретираат во жолчката.

Овие правила за молекулската маса при определување на патот за екскреција се разликуваат помеѓу претставниците од класата на цицачите. Кај нив влијание има и самата структура на молекулата. Така, присутна карбоксилна група во молекулата која се јонизира при физиолошко pH, промовира екскреција бидејќи: (1) ја зголемува растворливоста на ксенобиотикот во вода и (2) се препознава од билијарните и бубрежните транспортни системи за органски анијони кои овозможуваат екскреција на глюкуронидите во урината и жолчката.

Голем број на ензими од Фаза II постојат во повеќе форми што предизвикува клинички релевантни генетски полиморфизми. Генската UGT суперфамилија кај цицачите содржи четири фамилии, UGT1, UGT2, UGT3 и UGT8. До денес, идентификувани се најмалку 22 човечки UGT ензими од кои за метаболизмот на лекови најважни се претставниците од UGT1 и UGT2 фамилијата (слика 6.16). Фамилиите 1 и 2 првенствено користат UDPGA како кофактор, но можат да користат и други UDP-шеќери (како UDP-глюкоза и UDP-ксилоза). Идентификувани се лековите-супстрати за некои, но не и за сите UGT ензими, вклучувајќи ги:

- UGT1A1 (17 β -естрадиол-3-глюкуронид и билирубин),
- UGT1A3 (хексафлуоро-1 α ,25-трихидроксивитамин D3),
- UGT1A4 (трифлуоперазин),
- UGT1A6 (серотонин и 1-нафтол),
- UGT1A9 (пропофол),
- UGT2B7 (морфин-6-глюкуронид и зидовудин) и
- UGT2B15 (S-оксазепам).



Слика 6.16. Филогенетско дрво на фамилиите UGT1 и UGT2

Во клинички важните генетски полиморфизми се вклучуваат и интер-индивидуалните варијации на UGT1A1, изоформата на ензимот одговорен за конјугација на билирубинот (ендоботиотик) и одредени ксенобиотици (лекови).

Со помош на ДНК клонирање идентификувани се триесет и една алелни варијанти кои се вклучени во појавата на важни вродени дефекти кои се манифестираат со нарушувања на конјугацијата на билирубин и тоа:

- Криглер-Најар-ов (Criggler-Najar) синдром тип I,
- Криглер-Најар-ов (Criggler-Najar) синдром тип II и
- Гилберт-ова (Gilberts) болест.

Болестите во голема мера биле диференцирани врз основа на сериозноста на предизвиканите симптоми и вкупната плазмена концентрација на билирубинот кај засегнатата индивидуа (на пример, кај Криглер-Најар-овиот синдром тип I: 310-855 μM (билирубин), кај Криглер-Најар-овиот синдром тип II: 100-430 μM и Гилберт-ова болест: 20-100 μM).

Криглер-Најар синдромот тип I е најтешка форма на болеста и се карактеризира со целосно губење на билирубин-конјугирачката активност (пациентите со Криглер-Најар синдром тип I имаат целосен дефицит на UGT1A1) и немаат способност за конјугација на билирубинот што резултира со неконтролирана хипербилирубинемија која предизвикува сериозна жолтица и често доведува до смрт кај новороденчињата со овој генетски дефект. Криглер-Најар-овиот синдром тип I е поврзан со различни промени и делеции во екзоните 1-5 и/или со промени во интроните 1 и 3 кои ги афектираат донорните или акцепторните места на ензимот.

Полиморфизмите на други алелни варијанти на овој ген се асоцираат со помалку тешкиот тип II на Криглер-Најар синдромот. Во случајот на Гилберт-овата болест, што е поблага форма на овој дефект, пациентите имаат намалени нивоа на активен UGT1A1 ензим, па оттаму и намален метаболички капацитет, што резултира со поблага форма на хипербилирубинемија (повремено минлива и обично полесна) која често може да остане и неоткриена многу години.

Криглер-Најар тип II и Гилберт-овата болест (за разлика од Криглер-Најар тип I) вообичаено реагираат до одреден степен на третманот со лекот фенобарбитон кој стимулира конјугација на билирубинот најверојатно преку индуцирање на UGT1A1 изоформата. Тип I Криглер-Најар синдромот, исто така се асоцира и со нарушена глукуронидација и на други лекови, како пропифол, етинилестрадиол и различни други фенолни супстрати за истите UGT1A ензими. Полиморфизмите кои можат да влијаат на другите UGT1A ензими не се целосно карактеризирани во експерименти *in vivo*, но постојат податоци кои укажуваат на тоа дека полиморфизмите на овие ензими можат да го модифицираат ризикот од развивање на одредени типови на канцер.

6.2.1. Токсичност на метаболитите конјугати со глукуронска киселина

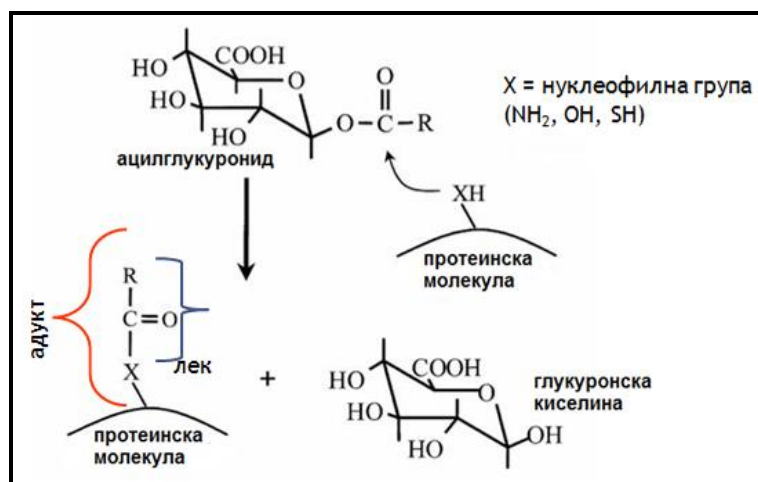
Конјугираните метаболити произведени од конјугациските реакции на Фаза II не секогаш резултираат со намалување на активноста. Вакви ситуации во кои конјугатите доведуваат до формирање на реактивни, потенцијално токсични метаболити се опишани особено за глукуронидите и сулфо-конјугатите.

Голем број на соединенија кои содржат карбоксилни групи се подложни на конјугација катализирана од UGT ензими што може да доведе до формирање на ацилглукурониди. Некои ацилглукурониди се реактивни интермедиери кои се врзуваат ковалентно за протеините (иреверзибилно) преку механизми кои може да предизвикаат токсични ефекти и формирање на адукти (слика 6.17). Покрај тоа,

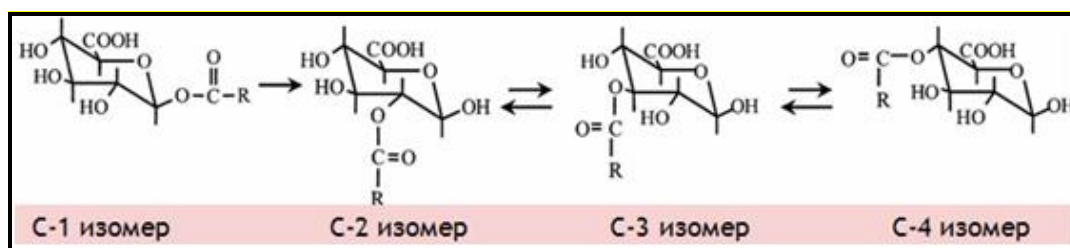
ацилглукуронидите се подложни и на реакција позната како ацил-миграција каде агликонот може да се движи од 1'-ОН групата кон другите хидроксилни групи од шеќерните остатоци на глукуронската киселина (слика 6.18). Ваквите промени во молекулата го прават добиениот конјугат отпорен на каталитичкото дејство на β -глукуронидазата и формираните протеински врзани адукти може да предизвикаат имунолошки проблеми (имунотоксичност) кај поединци кои имаат соодветна predisposition за тоа.

Типични супстрати кои се метаболизираат до ацилглукуронидни конјугати се нестероидните анти-инфламаторни лекови (како што се беноксапрофен, бромфенак, диклофенак, дифлунисал, етодолак, фенопрофен, флурбипрофен, ибупрофен, кетопрофен, локсопрофен, сулиндак, супрофен) кај кои се забележани ваквиот тип на токсични реакции. Ацилглукуронидите на НСАИЛ варираат широко во нивната реактивност, од високо реактивните ацилглукурониди на зомепирак и толметин до помалку реактивните ацилглукурониди на ибупрофен и салицилната киселина. Пронајдена е врска и помеѓу реактивноста на ацилглукуронидите и супституцијата во близина на карбоксилната група во молекулата. Во принцип, α -несупституираните деривати на оцетна киселина како зомепирак, толметин и диклофенак покажуваат највисок степен на ковалентно врзување, додека α -супституираните деривати на оцетна киселина, како ибупрофен, кетопрофен и супрофен покажуваат ниски нивоа на ковалентно врзување со протеините (слика 6.19).

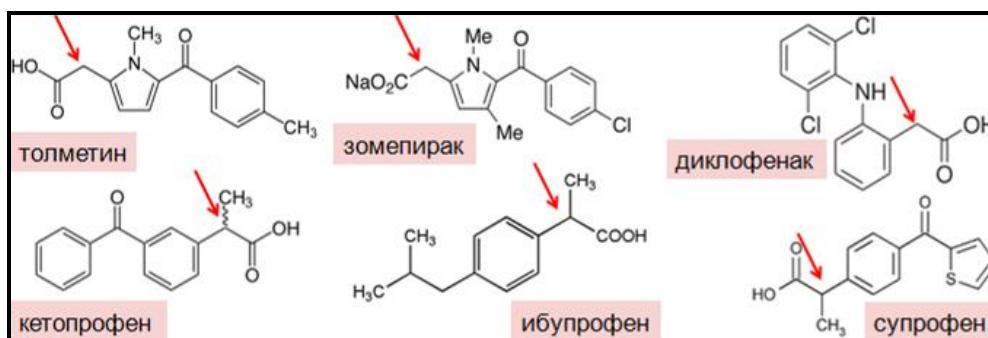
Сепак, директна корелација помеѓу способноста на ацилглукуронидите да го зголемат бројот на формираните ковалентни адукти со протеините (како што е албуминот) и нивната способност да предизвикаат лек-поврзана токсичност не е цврсто воспоставена бидејќи во настанувањето на истата се вклучени и други механизми.



Слика 6.17. Формирање на ацилглукурониди како реактивни интермедиери



Слика 6.18. Шематски приказ на ацил-миграција на агликонот



Слика 6.19. Структурни формули на α -несупституирани и α -супституирани деривати на оцетна киселина од групата на НСАИЛ кои може да формираат ацилглукурониди

6.2.2. Индуција на UGT изoenзимите

Голем број на агенси (особено рифампицин и некои антиепилептични лекови) се познати како индуктори на UGT изoenзимите (истовремено и на CYP, особено на CYP3A4 изoenзимот). Оралните контрацептивни препарати се исто така познати индуктори на UGT изoenзимите.

Способноста на дадено соединение да биде индуктор на UGT ензимите се користи во некои ситуации за терапија на определени болести. На пример, кај пациенти со Криглер-Најар синдром се користи лекот фенобарбитон за индуција на UGT1A1 *in vivo*. И во експерименти со примероци од човечки хепатоцитни клетки се покажало дека е возможно индуцирањето на оваа изoenзимска форма.

6.2.3. Инхибиција на UGT изoenзимите

Познати се и лек-лек интеракции кои барем делумно се должат на инхибицијата на UGT ензимите. На пример, плазмените нивоа на индометацин се зголемуваат и до два пати при ко-администрација на дифлунисал и со *in vitro* студии е покажано дека оваа интеракција се должи делумно на инхибицијата на глукуронидацијата на индометацин во цревата. Ко-администрацијата на валпроична киселина ја зголемува AUC на лоразепамот и ламотригинот за 20% и повеќе од 1,5 пати, соодветно. За разлика од ситуацијата со CYP ензимите, постојат помалку инхибиторни лек-лек интеракции предизвикани со инхибиција на UGT ензимите.

6.3. Сулфатирање (Сулфо-конјугација)

Конјугацијата со сулфатна група (SO_3^-) или сулфо-конјугација е една од главните патеки на Фаза II од метаболизмот на лекови и се врши од страна на семејство на ензими наречени **сулфотрансферази (SULT)**.

Процесот на сулфатирање генерално продуцира естри на сулфурната киселина, кои се многу добро растворливи во вода. Овие ензими играат фундаментална улога во метаболизмот и екскрецијата и на ендогените соединенија и на ксенобиотиците.

Овие ензими покажуваат широк степен на супстратна специфичност која ги опфаќа и ендогените соединенија, како што се стероидните хормони, жолчните киселини, јодотиронините, моноамино-невротрансмитерите, шеќерните остатоци од гликопротеините и гликозаминогликаните, тирозинските резидуи во протеините и пептидите, исто како и ксенобиотиците кои се подложни на метаболизам во организмот вклучувајќи лекови, загадувачи од животната средина и прехранбени адитиви. Процесот на сулфатирање овозможува и дејодинација на тироксинот и

тријодтиронинот и преку него може да се одреди брзината на елиминација на тироидните хормони кај некои животински видови. Исто така, определени соединенија (*проканцерогени*) со процесот на сулфатирање се конвертираат во силно реактивни интермедиери кои може да дејствуваат како хемиски канцерогени и мутагени преку ковалентното врзување со ДНК.

Постојат два типа на SULT ензими кај човекот кои се разликуваат по нивната субцелуларна локализација и функциите. Првиот тип се наоѓаат врзани за мембраните на Golgi-апаратот. Овие SULT ензими се одговорни за сулфатирање на ендогени протеини, пептиди и гликани. Тие се важни за многу билошки процеси како што се меѓуклеточната адхезија, нормалната функција на аксоните, Т-клеточниот одговор, процесот на клеточната пролиферација и модулацијата на вирусната или бактериската инфекција, но немаат никакво дејство врз ксенобиотиците.

Вториот тип се растворливи SULT ензими кои се наоѓаат растворени во цитоплазмата и се вклучени во детоксикацијата и метаболизмот т.е. учествуваат во сулфатирањето на повеќе лекови, мутагени супстанции, флавоноиди и други ксенобиотици, но и ендогени супстрати (жолчни киселини, тироидни хормони, катехоламини и стероиди).

Сулфатирањето, како и глукуронидацијата, се случува во многу ткива кај цицачите со општо најголема активност во црниот дроб и тенкото црево. Сулфатирањето на стероидите се случува во повеќето ткива, иако најголема активност има во надбубрежните жлезди, бубрезите и мозокот.

Сулфотрансферазите катализираат трансфер на наелектризирана сулфатна група (SO_3^-) од кофакторот **3'-фосфоаденозин-5'-фосфосулфат (PAPS)**. Во сите случаи, реакцијата на конјугација вклучува нуклеофилен напад од кислородниот или азотниот атом врз електрофилниот сулфурен атом на PAPS, преку кинење на фосфосулфатната врска (слика 6.20).

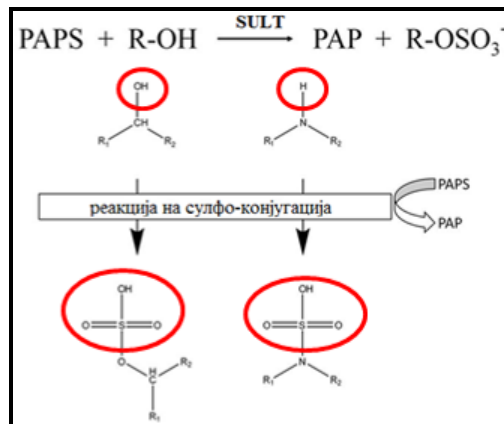
PAPS е универзална сулфо-донорна молекула неопходна за одвивање на сите реакции на сулфатирање и може да се синтетизира во сите ткива кај цицачите.

Кофакторот PAPS се синтетизира од ATP и неоргански сулфат (SO_4^{2-}) во два чекори со последователно делување на два ензима, **АТФ-сулфурилаза** и **аденозин-5'-фосфосулфат киназа (APS-киназа)** (слика 6.21).

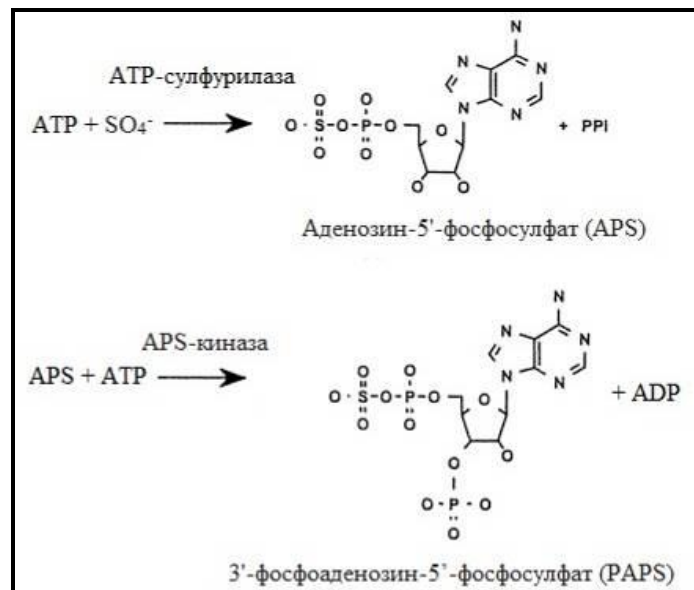
Првата реакција се катализира од АТФ-сулфурилаза, при што настанува конверзија на ATP и SO_4^{2-} во аденозин-5'-фосфосулфат (APS) и пиродифосфат.

Втората реакција се катализира од APS-киназата, која предизвикува трансфер на една фосфатна група од ATP на позицијата 3 од APS.

Главниот извор на сулфат кој е потребен за синтеза на PAPS доаѓа од цистеинот. Поради тоа што концентрацијата на слободен цистеин во организмот е ограничена, клеточната концентрација на PAPS (4-80 μM) е значајно пониска од онаа на UDP-глукуронската киселина (200-350 μM) и онаа на глутатионот (5-100 mM). Релативно ниската концентрација на PAPS во организмот го ограничува капацитетот на реакциите за сулфатирање на ксенобиотици. Главно, сулфатирањето е патека на конјугација на ксенобиотиците која се одликува со голем афинитет за конјугација на супстрати, но со мал капацитет (за разлика, глукуронидацијата како патека на конјугација се карактеризира со мал афинитет кон супстратите, но со голем капацитет).

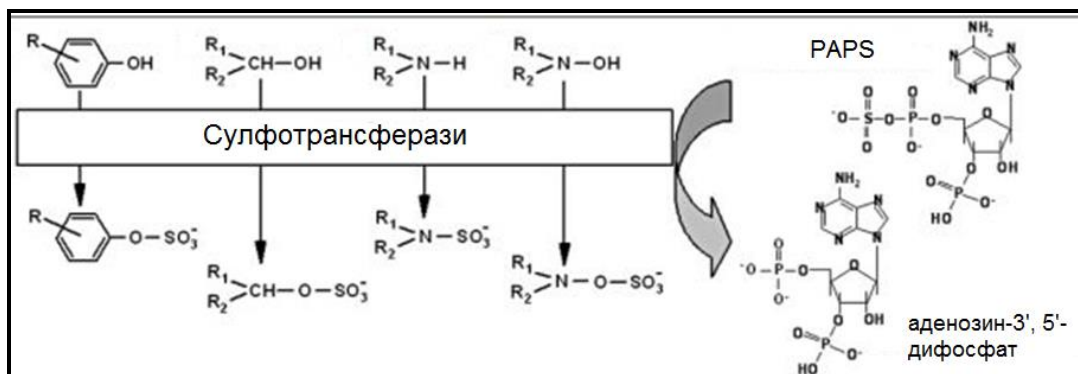


Слика 6.20. Реакција на сулфо-конјугација

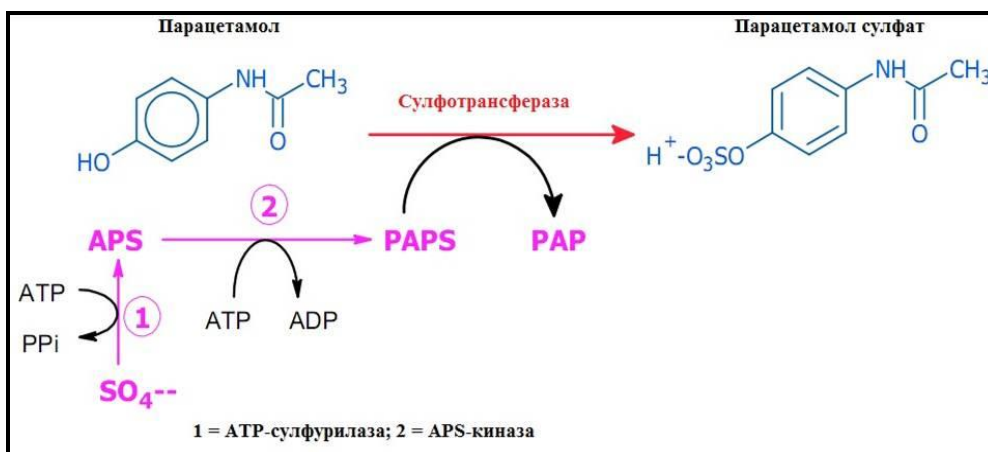


Слика 6.21. Синтеза на кофакторот PAPS

Лековите кои содржат некои од функционалните групи наведени во шемата прикажана на слика 6.22, може да подлежат на реакции на метаболизирање во кои учествуваат ензимите сулфотрансферази. Карактеристичниот пример на овој тип реакции имено, сулфо-конјугацијата на ацетаминофен (парацетамол) е прикажан на слика 6.23.



Слика 6.22. Реакции на метаболизирање на лекови со определна функционална група кои се катализираат од ензимите сулфотрансферази



Слика 6.23. Сулфо-конјугација на парацетамол

Ацетаминофенот е еден од повеќето лекови кои се супстрати и на сулфотрансферазите и на UDP-глукуронозилтрансферазите (слика 6.24). Релативната количина на добиените сулфатни или глукуронидни конјугати на ацетаминофен зависи од применетата доза. Во помали дози, ацетаминофен сулфат е главен конјугат поради големиот афинитет на сулфотрансферазите кон ацетаминофенот. Како што дозата на лекот се зголемува, процентот на ацетаминофен кој се конјугира преку сулфатирање се намалува, додека процентот на ацетаминофен кој се конјугира со глукуронска киселина се зголемува.

Дополнително, ацетаминофенот може да се активира и при реакција со цитохром P450 водејќи до формирање на метаболити кои се карактеризираат со хепатотоксичност или при реакција катализирана од простагландин H синтетаза (PHS) водејќи кон добивање на нефротоксични метаболити. Всушност, реакциите на метаболизирање на ацетаминофен преку сулфатирање, глукуронидација или конјугација со глутатион се реакции на детоксикација (слика 6.24).

Примери за други лекови (меѓу кои групата на хинолони) кои подлежат на реакции на сулфо-конјугација се илустрирани на слика 6.25.

секвенца, додека потфамилиите имаат над 60% идентичност меѓусебе. Фамилиите се означени со арапски броеви, потфамилиите со големи букви и индивидуалната изоформа со друг арапски број, на пример, SULT1A1. Кај луѓето, се идентификувани 11 различни изоформи на сулфотрансферазите, и врз основа на оваа класификација се означени како **SULT1** (SULT1A1, SULT1A2, SULT1A3, SULT1B1, SULT1C2, SULT1C4, SULT1E1), **SULT2** (SULT2A1, SULT2B1-v1, SULT2B1-v2) и **SULT4** (SULT4A1) семејства.

Различните SULT изоформи кај човекот покажуваат различни уникатни супстратни специфичности. За семејството на SULT1 изоформите се смета дека се главните форми кои се вклучени во метаболизмот на лековите, меѓу кои SULT1A1 изоформата е најважна и покажува широка разновидност во однос на својот капацитет да катализира сулфатирање на широк спектар на структурно хетерогени ксенобиотици. Изоформите од семејството SULT1 се познати и како фенолни SULT, бидејќи се карактеризираат со способност да катализираат сулфатирање на фенолни молекули (како што се ацетаминофен, миноксидил или 17 α -етинил естрадиол).

Постојат две SULT1C изоформи, но малку се знае за нивната супстратна специфичност кон лекови, иако за SULT1C4 е познато дека може да го сулфатира хепаталниот канцероген N-OH-2-ацетиламинофлуорен.

Изоформата SULT1E катализира сулфатирање на ендогени и егзогени стероиди и е локализирана во црниот дроб како и во други хормон-чувствителни ткива како што се тестисите, млечните жлезди, надбубрежните жлезди и плацентата.

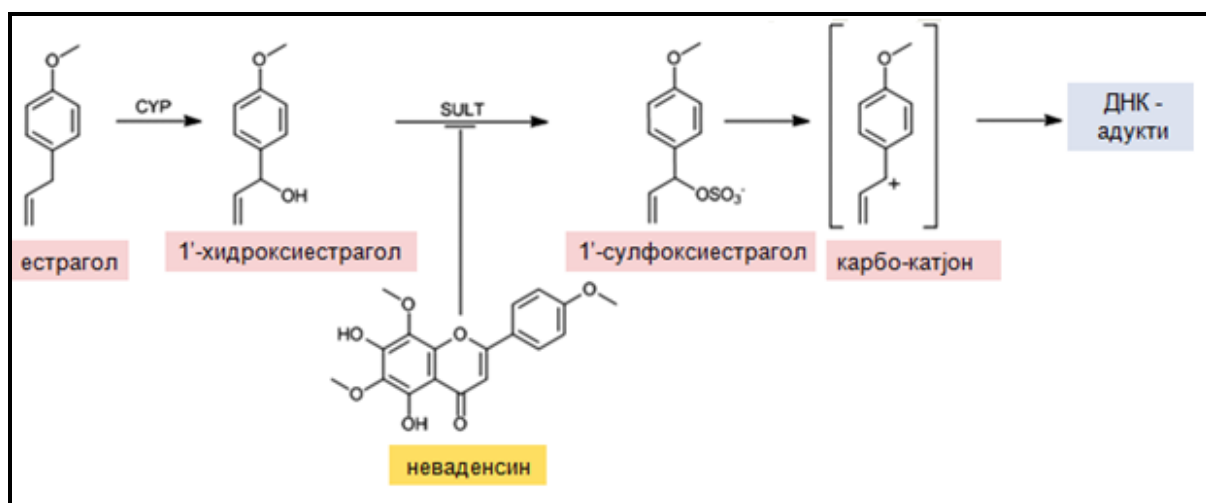
Конјугацијата на лековите и други ксенобиотици се смета првенствено како чекор на детоксикација кој овозможува овие компоненти да се насочат во просторите (компартмани) на телото (поради хидрофилноста) од каде ќе следи нивна елиминација. Сепак, метаболизмот на лекови преку сулфатирање често води и кон производство на хемиски реактивни метаболити, каде сулфатната група повлекува електрон и може да дојде до хетеролитичко расцепување на молекулата, што доведува до формирање на електрофилен катјон.

Повеќето примери за генерирање на канцерогени или појава на токсични одговори кај различни животински видови се забележани за хемикалии кои произлегуваат од животната средина или од мутагени генерирани при подготовката на храната (варено месо). Затоа важно е да се разбере дали може да се направи генетска поврзаност на познатите човекови SULT полиморфизми со појавата на рак за кои се смета дека се иницирани од извори од животната средина.

Меѓу добропроучените е генетскиот полиморфизам на најзастапената изоформа во хепарот кај возрасен човек т.е. за SULT1A1. Честа е појавата на единичен нуклеотиден полиморфизам на 213 позиција каде аминокиселината Arg се заменува со His, што резултира со варијации во активноста и стабилноста на ензимот. Оваа мутација е присутна кај околу 25-36 % од припадниците на белата раса. Неколку научни студии демонстрираат дека SULT1A1 полиморфизмот може да има улога во развојот на различни видови рак како што се рак на бел дроб, уротелијален карцином и менингијални мозочни тумори.

При изложување на определени лекови (како што се мефенаминска киселина, салицилна киселина, кломифен, даназол) може да се случи инхибиција на SULT ензимите. Ваква инхибиција може да настане и под дејство на хемикалии од околината како што се: хидроксилирани PCB, хидроксилирани PAH, пентахлорофенол, триклосан и бисфенол А, како и под дејство на супстанции кои се внесуваат со исхраната како што се катехини, фитоестрогени и флавоноиди. Пример за инхибиција на сулфотрансферазите во присуство на природниот флавоноид, неваденсин, е прикажан на слика 6.26. Несакани ефекти врз здравјето на луѓето можат да бидат

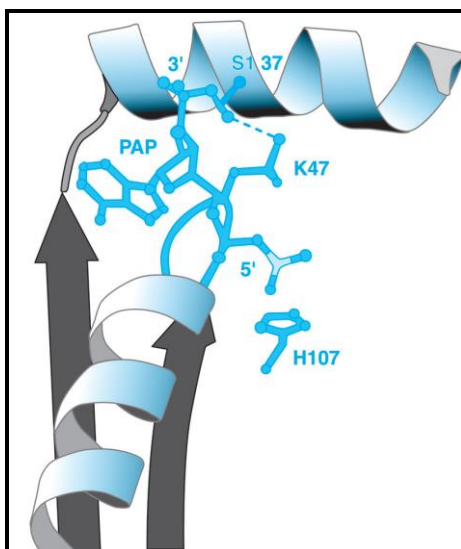
токму последица од инхибицијата на SULT-ензимите. На пример, во ваков случај може да настане прекин на лачењето на тироидните хормони, што се случува поради изложување на организмот на хидроксилрани PCB кои се типичен пример за инхибитори на определени изоформи од сулфотрансферазите.



Слика 6.26. Инхибиција на SULT ензимите и метаболизмот/биоактивацијата на естрагол предизвикана од неваденсин

Естрагол (p-алиланизол) е биоорганско соединение. Структурата е составена од бензенски прстен супституиран со метокси група и пропенилна група. Тој е изомер на анетол од кој се разликува во однос на локацијата на двојната врска. Се среќава кај различни растенија, вклучително и терпентинот (масло од бор), анасон и босилек. Како што е наведено од страна на извештајот на Европската унија, Комисијата за хербални лекови, естрагол се смета за канцерогена и генотоксична компонента. Флавоноидот (откриен во растението босилек) неваденсин има инхибиторен ефект врз биоактивацијата на естрагол посредувана од SULT ензимите. Оваа инхибиција резултира со намалување на формирањето на ДНК адукти и намалување на случаите на хепатоцелуларна неоплазија.

Познавањето на протеинската структура на семејството на SULT ензимите ќе помогне во дизајнирањето на нови лекови и ќе го унапреди разбирањето на врската меѓу сулфотрансферазните ензими, реакциите на сулфо-конјугација и подложноста и развојот на рак кај определени индивидуи. SULT1 и SULT2 семејствата се меѓу првите ксенобиотик-метаболизирачки ензими со точно утврдена структура и добиени во кристална форма. Добиените податоци покажуваат на строго зачувано каталитичко јадро (слика 6.27), а структурата ја открива улогата на кофакторот PAPS во катализата, идентификувајќи ги зачуваните аминокиселини што ја олеснуваат улогата на 3'-фосфатот во трансферот на сулфо-групата на протеините и трансформацијата на супстратот.



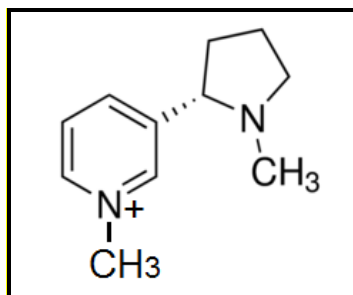
Слика 6.27. Предложена структура на сулфотрансферази (SULT)

Прикажани се зачуваните спирални структури на каталитичкото јадро на сите SULT ензими каде се врзува PAPS и ксенобиотиците. Прикажана е интеракцијата на формирање на водородната врска на PAPS со Lys⁴⁷, Ser¹³⁷ и His¹⁰⁷ кои всушност ги градат комплексите со супстратот (ксенобиотиците) (Според Negishi et al., 2001).

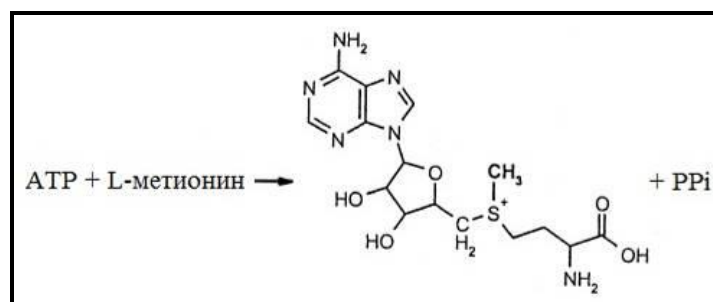
6.4. Метилација

Метилацијата, катализирана од **ензими метилтрансферази (MT)**, е мала патека од метаболизмот на ксенобиотици, иако таа е суштински чекор во метаболизмот на некои ендогени соединенија, како што се катехоламините, хистаминот и N-ацетилсеротонин. Метилацијата се разликува од другите реакции во Фаза II, бидејќи обично резултира со намалување на растворливоста на ксенобиотиците во вода. Секако дека ова не е секогаш случај, бидејќи N-метилацијата на пиридинските групи, на пример кај никотин, може да доведе до добивање на кватернерни амониум јони, кои се мошне растворливи во вода (слика 6.28).

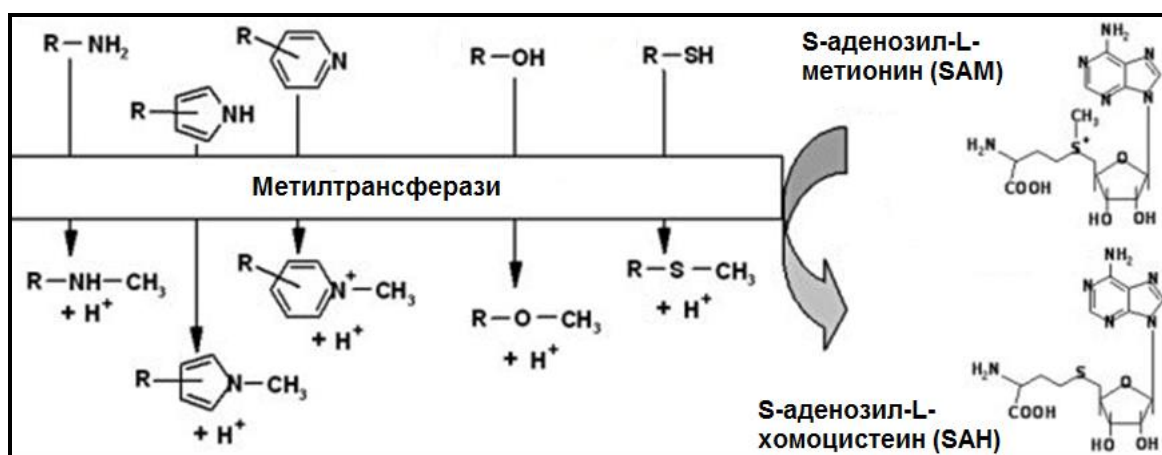
Кофактор за реакциите на метилација е **S-аденозилметионин (SAM)** чијашто структура е прикажана претходно на слика 6.2. Во текот на реакциите на метилација, SAM се конвертира во **S-аденозил-L-хомоцистеин (SAH)**. Синтезата на SAM е прикажана на слика 6.29. Метилната група која се врзува за сулфониум јонот во SAM има карактеристики на карбониум јон, а се пренесува до ксенобиотиците и ендогените супстрати преку нуклеофилен напад од електрон-богатите хетероатоми (O, N или S). Следствено, функционални групи во структурата на ксенобиотиците кои ќе бидат вклучени во реакциите на метилација се фенолни, катехолни, алифатични и ароматични amino групи, N-атом во N-хетероциклични соединенија или сулфхидрилна група (слика 6.30).



Слика 6.28. Структурна формула на N-метилникотиниум јон



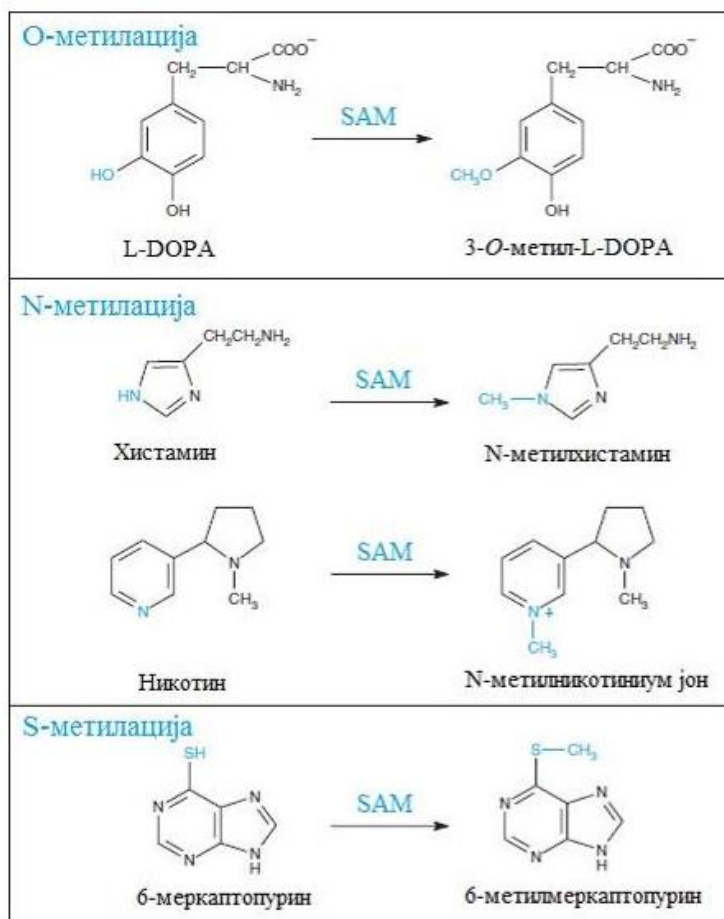
Слика 6.29. Синтеза на S-аденозилметионин (SAM)



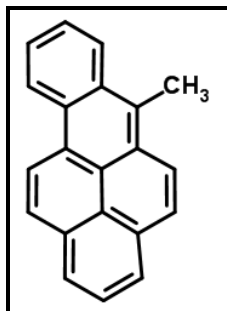
Слика 6.30. Ксенобиотици кои содржат некои од функционалните групи (на прикажаната шема) може да подлежат на реакции на метаболизирање катализирани од метилтрансферази

Некои примери за ксенобиотици и ендогени супстрати кои содржат хетероатом O-, N- или S- и подлежат на реакции на метилација се прикажани на слика 6.31. Претворањето на бензо[а]пирен во 6-метилбензо[а]пирен (слика 6.32) е редок пример за C-метилација.

Металите исто така можат да бидат метилирани во реакции катализирани од ензимите метилтрансферази. Неорганската жива и арсенот можат да бидат диметилирани, а неорганскиот селен може да биде триметилиран.



Слика 6.31. Метилација на некои ксенобиотици и ендобиотици



Слика 6.32. Структурна формула на 6-метилбензо[а]пирен (пример за С-метилација)

Постојат повеќе типови на ензими метилтрансферази. Најважните три вида на МТ кои се експресираат кај човекот се:

- О-метилтрансферази:**
 - катехол О-метилтрансфераза (COMT) и
 - фенол О-метилтрансфераза (POMT).
- S-метилтрансферази:**
 - тиопурин S-метилтрансфераза (TPMT) и
 - тиол метилтрансфераза (TMT).
- N-метилтрансферази:**
 - фенилетаноламин N-метилтрансфераза (PNMT),
 - хистамин N-метилтрансфераза (HNMT) и
 - никотинамид N-метилтрансфераза (NNMT).

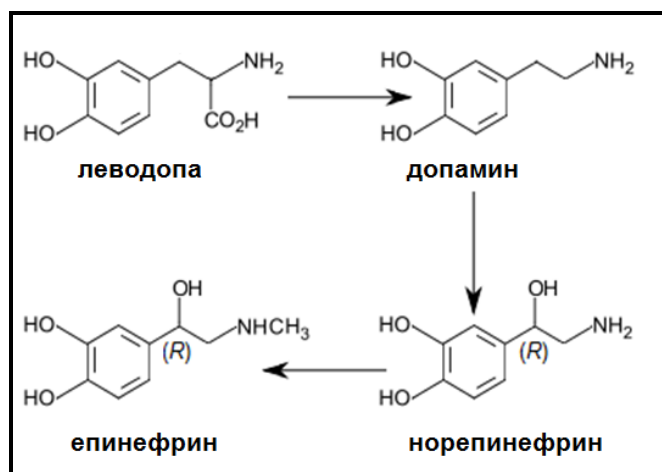
О-Метилацијата на феноли и катехоли се катализира од два различни ензими познати како фенол О-метилтрансфераза (POMT) и катехол О-метилтрансфераза (COMT). POMT е микрозомален ензим кој метилира фенолни соединенија, додека COMT е и микрозомален и цитозолен ензим со апсолутна супстратна специфичност (само катехоли) и поради ова има многу важна улога во метаболизмот на катехоли. COMT е присутен во повеќето ткива со највисоки концентрации во црниот дроб и бубрезите. Супстрати за COMT се катехолните невротрансмитери (адреналин, норадреналин и допамин), лекови како L-DOPA, метилдопа и изопреналин, но и супстанции кои предизвикуваат зависност (како екстази (3,4-метилендиокси-метамфетамин – MDMA)).

COMT ензимот е вклучен во конверзијата и инактивацијата на ендегените катехоламински невротрансмитери (допамин, епинефрин и норепинефрин), но и лекот Леводопа (L-DOPA), кој всушност е прекурсор на допаминот, е важен супстрат на COMT (слика 6.33). Бидејќи регулацијата на катехоламините е нарушена кај голем број на медицински состојби, постојат повеќе лекови кои за целно место го имаат COMT ензимот и промената на неговата активност и соодветно како резултат ја менуваат достапноста на катехоламините во ЦНС.

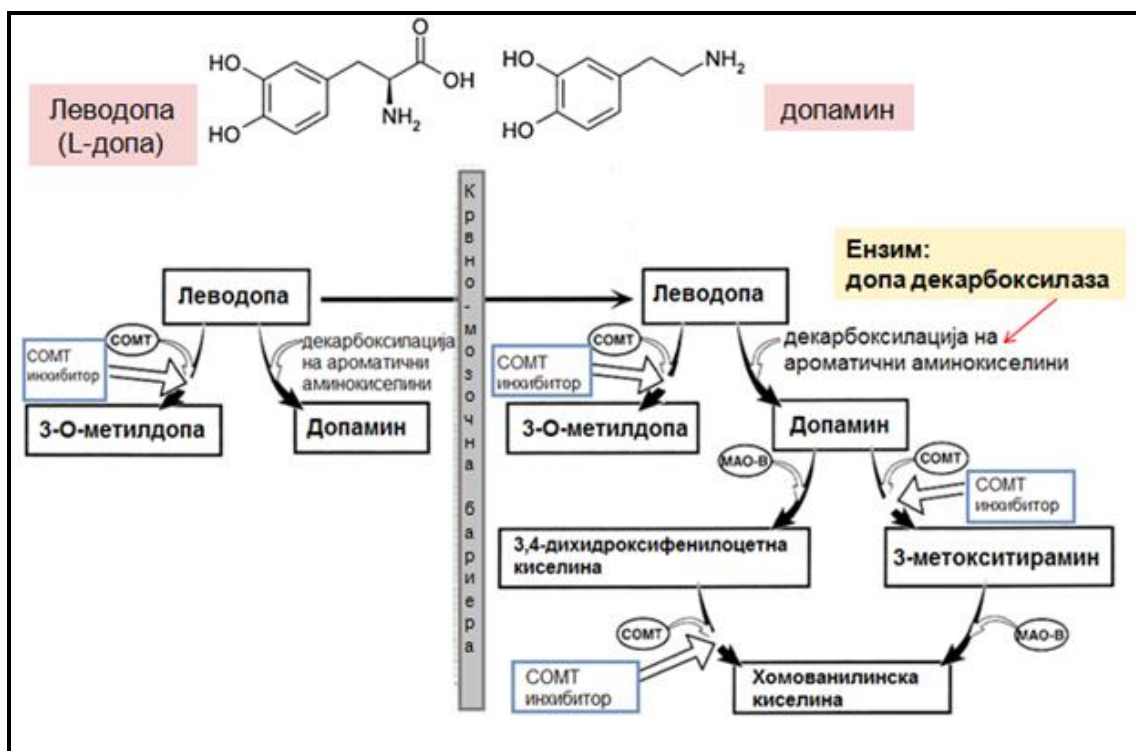
Познати се и неколку COMT инхибитори како што се експерименталните лекови ентакапон и толкапон. COMT инхибитори исто така се откриени и во зелениот чај (на пример, флавоноидот кверцетин). COMT инхибиторите како ентакапон и толкапон, ја заштитуваат L-DOPA од дејството на COMT и со тоа го пролонгираат ефектот на ова соединение. Затоа овие инхибитори се користат како придружни лекови при терапијата со L-DOPA (слика 6.34). Кога COMT инхибитор ќе се даде на пациент заедно со инхибитор на ензимот допа декарбоксилаза (лековите карбидопа или бензеразид), L-DOPA оптимално ќе биде заштитена од деградација. Оваа „тројна комбинација“ се користи во третманот на Паркинсоновата болест.

Кај луѓето, COMT ензимот е кодиран со еден ген со алели за форми со ниска, интермедиерна или висока активност. Кај припадниците на белата раса, овие алелни варијанти се изразени со еднаква застапеност, додека кај Афроамериканците формата со повисока активност е пораспространета. Идентификувана е и можноста за постоење на функционален единичен нуклеотиден полиморфизам во генот за COMT (Val¹⁰⁸/Met¹⁵⁸) при што COMT ензимската активност (ниска, интермедиерна или висока) во човековите еритроцити и црниот дроб е генетски детерминирана. Овој полиморфизам е резултат на транзиција на G → A во нуклеотидот 158 или 108 во COMT-генот што резултира со супституција на аминокиселината валин со метионин што пак предизвикува намалување на активноста на COMT ензимот за 3-4 единици од нормалната. Овој функционален полиморфизам во COMT-генот е испитуван како етиолошка причина за бројни невролошки нарушувања во норадренергичниот или допаминскиот систем во врска со заболувања како што се шизофренијата или Паркинсоновата болест.

Исто така, некои испитувања го посочуваат и уделот на присутен COMT-полиморфизам во етиологијата и развојот на хроничниот алкохолизам. Резултатите од овие студии индицираат дека COMT полиморфизмот значајно придонесува во развојот на доцниот (после 25-ата година од животот) алкохолизам. Во овој контекст, демонстрирана е и врска на пониската COMT активност и развојот на раниот (< 25 година) алкохолизам.

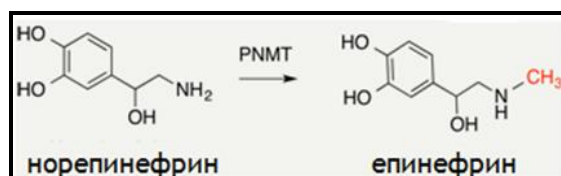


Слика 6.33. Конверзија на катехоламинските невротрансмитери

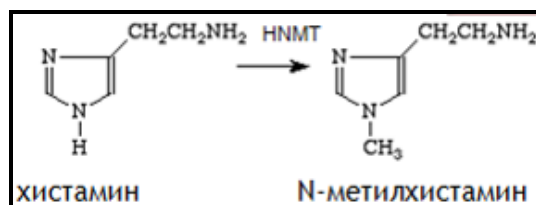


Слика 6.34. Механизам на дејство на COMT инхибитори кои се користат како придружни лекови при терапијата со L-DOPA

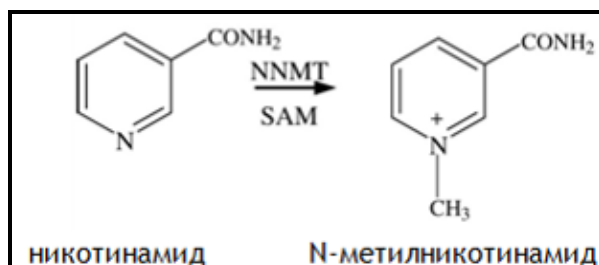
Опишани се три типа на **N-метилтрансферази** кај човекот, вклучувајќи ги фенилетаноламин N-метилтрансфераза (PNMT) којашто ја катализира N-метилацијата на невротрансмитерот норепинефрин во епинефрин (слика 6.35), потоа хистамин N-метилтрансфераза (HNMT) што специфично го метилира имидазолниот прстен на хистамин и сродните соединенија (слика 6.36) и никотинамид N-метилтрансфераза (NNMT) којашто ги метилира соединенијата што содржат пиридински прстен (како што е никотинамид) (слика 6.37) или пак индолен прстен (како што се триптофан и серотонин).



Слика 6.35. N-метилација на невротрансмитерот норепинефрин во епинефрин во реакција катализирана од ензимот PNMT



Слика 6.36. N-метилација на хистамин (и сродни соединенија) во реакција катализирана од ензимот HNMT

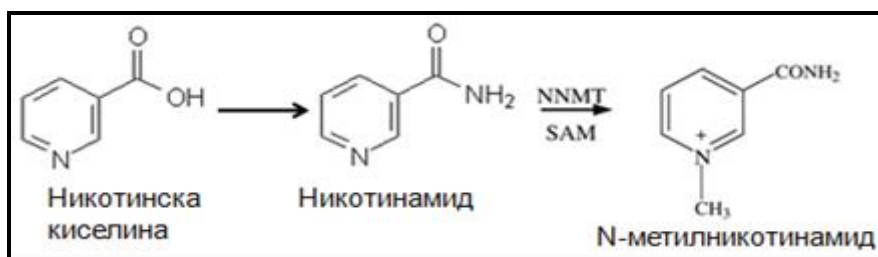


Слика 6.37. N-метилација на никотинамид во реакција катализирана од ензимот NNMT

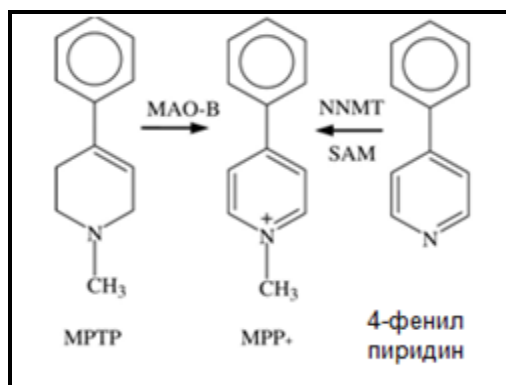
PNMT е цитозолен ензим, се експресира во високи нивоа во адреналните медуларни хромафински клетки и во невроните на *medulla oblongata*, хипоталамусот, како и во сензорните јадра на *n. vagus* и ретината и се смета дека нема значајна улога во метаболизмот на ксенобиотиците.

HNMT исто така е ензим на цитозолот кој во високи нивоа се експресира во бубрезите, црниот дроб, колонот, простатата, јајниците и клетките на 'рбетниот мозок. Неговата активност (која може да се измери во еритроцитите) варира шестократно помеѓу индивидуите поради можен генетски полиморфизам (C \rightarrow T) којшто резултира со точката мутација, Thr¹¹⁵Ile. Вториот алел (Ile¹¹⁵) е реалтивно чест кај белците и Кинезите (10 % фреквенција во популацијата) и кодира варијанта на HNMT ензим со намалена каталитичка активност и термална стабилност. HNMT може да влијае на ефикасноста на некои лекови со механизам кој не е тотално разјаснет.

NNMT ја катализира N-метилацијата на никотинамид и структурно сродните пиридински соединенија (вклучувајќи го и пиридинот) формирајќи позитивно наелектризиран пиридиниум јон. Никотинската киселина (ниацин), често користен агенс за намалување на плазмените нивоа на липидите, преку овој ензим се конвертира во никотинамид аденин динуклеотид, NAD (слика 6.38). За разлика од многу други метилтрансферази, NNMT не се експресира во еритроцитите. NNMT се експресира во мозокот и е вклучена како компонента во етиологијата на идиопатска Паркинсонова болест поради способноста да го конвертира 4-фенилпиридин во MPP⁺, познато како соединение-предизвикувач на симптомите на Паркинсонова болест (види во делот Моноамино оксидази) (слика 6.39).



Слика 6.38. N-метилација на никотинска киселина во реакција катализирана од ензимот NNMT



Слика 6.39. Конверзија на 4-фенилпиридин во MPP⁺ во реакција катализирана од ензимот NNMT

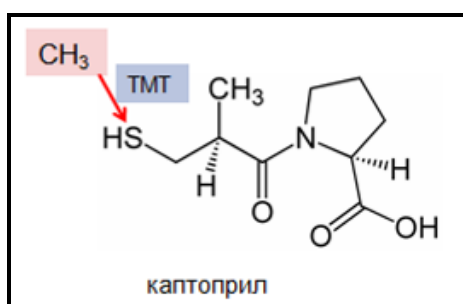
Кај човекот, **S-метилацијата** е важна патека во биотрансформацијата на ксенобиотици кои содржат сулфхидрилни функционални групи (вклучувајќи ги антихипертензивниот лек каптоприл, антиревматскиот (и хелаторен) агенс α -пенициламин, антинеопластичните и имunosупресивните лекови 6-меркаптопурин, 6-тиогванин и азатиоприн, метаболитите на лекот дисулфирам и деацетилираниот метаболит на диуретикот спиронолактон) и се катализира од два ензими, **тиопурин метилтрансфераза (TPMT)** и **тиол метилтрансфераза (TMT)**.

TMT е микрозомален ензим со афинитет за алифатични сулфхидрилни соединенија (како што е каптоприл) (слика 6.40). TPMT е цитоплазматичен ензим со афинитет првенствено за ароматични хетероциклични соединенија како 6-меркаптопурин и азатиоприн (слика 6.41). TPMT е кодиран од еден ген со алели за форми со ниска и висока активност. Генетскиот полиморфизам на овие алели може да доведе до нарушувања во метаболизмот на определени ксенобиотици кои се конвертираат во продукти со зголемена токсичност. Генетскиот полиморфизам на TPMT формите доведува до ниска, интермедиерна или висока активност со тримодална дистрибуција на TPMT активноста изразена како 0,3%, 11,1% и 88,6 % од популацијата, соодветно. Кај пациенти со рак со генетски детерминирана ниска или интермедиерна TPMT активност, постои висок ризик од несакани ефекти и токсичност кога се третираат со стандардни дози на тиопурины, додека кај пациенти со висока TPMT активност постои низок ризик од токсичност, но пак со стандардната доза не може да се постигне оптималната концентрација на лекот во крвта, со што постои ризик од релапс на болеста (слика 6.42).

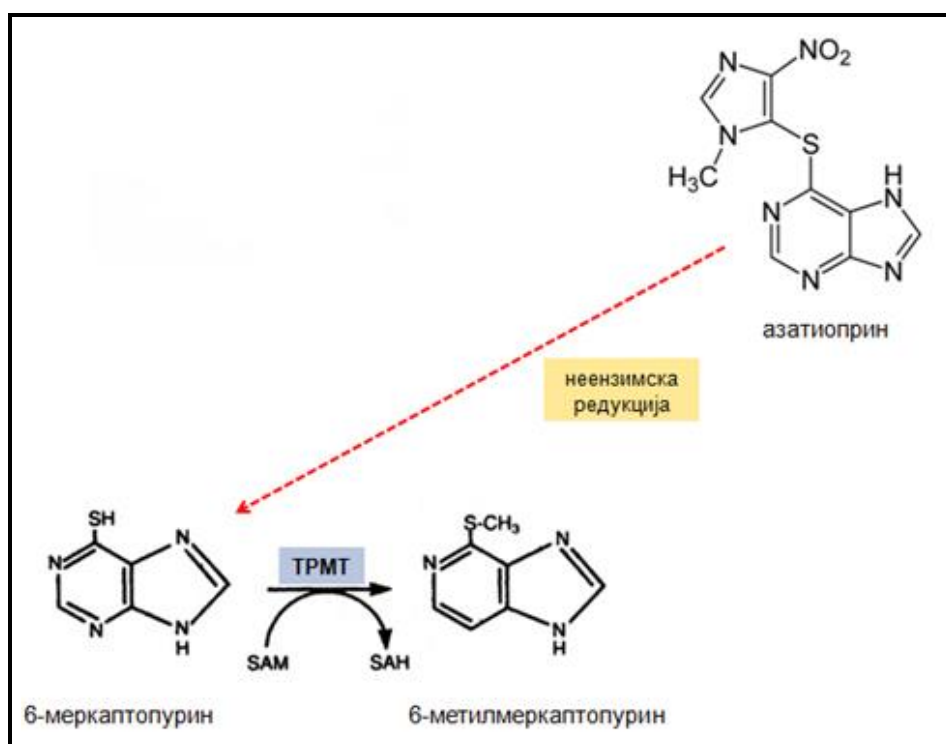
Во претходните неколку години, откриена е и опишана метилтрансфераза AS3MT (претходно наречена Cyt19) која врши метилација на неорганскиот арсен до интермедиери, кои всушност се со изразена цитотоксичност и генотоксичност отколку арсенатот и арсенитот. As-метилтрансферазата (AS3MT) е од клучно значење за метаболизмот на арсенот во организмот, а со тоа може да биде и фармаколошки важна. Арсенот е добро познат природен металоид која се смета како канцероген за човекот со двојна улога и како еколошки загадувач-канцероген, но пак од друга страна,

арсен триоксидот (As_2O_3) е можен евентуално ефикасен антиканцерен лек (испитувањата се во тек) против акутна промиелоцитна леукемија. Неговиот метаболизам кој се одвива преку комплицирана ензимска патека, може да води до детоксикација (метирираниот и диметириран асен се главните уринарни метаболити кај човекот, а и кај многу други животински видови) но и до производство на повеќе токсични интермедиери (тривалентните интермедиери кои се формираат за време на процесот на метилација). Метилацијата е важна реакција во биотрансформацијата на асенот. Црниот дроб се смета за примарна локација за метилација на неорганскиот асен (As) и As^{+3} .

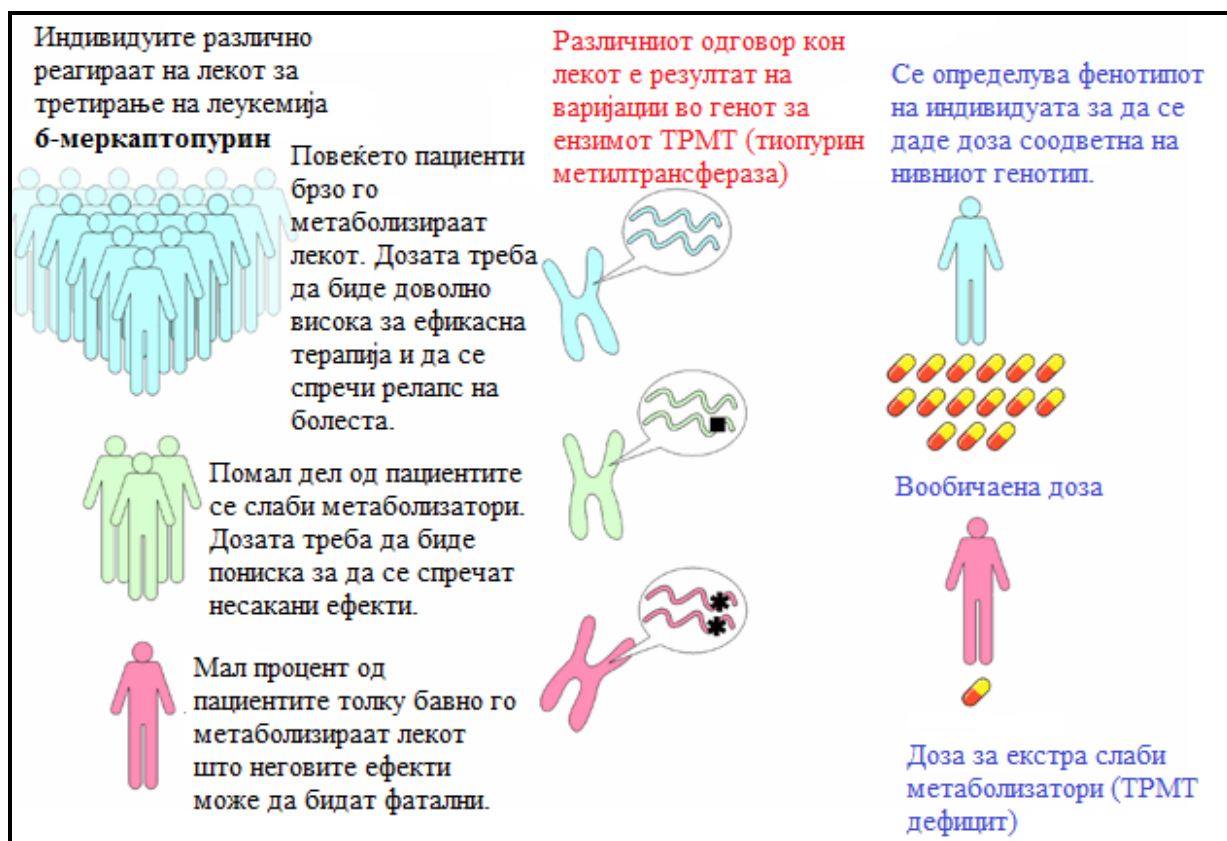
Од 27-те досега идентификувани полиморфизми кај овој ген, одговорен за метилацијата на асен, два ретки алели предизвикуваат значајно намалена активност и синтеза на имунореактивни протеини (кај ~10 % од Афроамериканците и белците). Затоа кај 1 % од Афроамериканците и белците ќе се очекува да бидат хомозиготи за алелот кој кодира висока активност на AS3MT и ова може потенцијално да води до зголемена токсичност на асенот кај овие индивидуи.



Слика 6.40. Метилација на каптоприл во реакција катализирана од ензимот тиол метилтрансфераза (TMT)



Слика 6.41. Метилација на ароматични хетероциклични соединенија во реакција катализирана од ензимот тиопурин метилтрансфераза (TPMT)

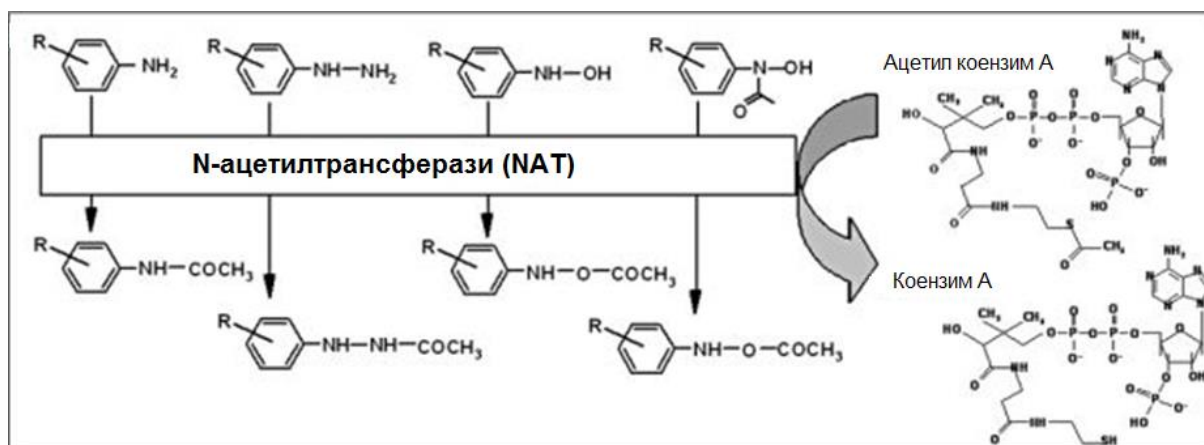


Слика 6.42. Врска помеѓу генетскиот полиморфизам на TPMT формите и пациенти канцер-болни третираани со стандардни дози на 6-меркаптопурин

6.5. Ацетилирање

Ацетилирањето е главниот пат на метаболизирање за ксенобиотиците кои содржат ароматична amino ($R-NH_2$) или хидразинска група ($R-NH-NH_2$), при што истите се конвертираат во ароматични амиди ($R-NH-COCH_3$) или хидразиди ($R-NH-NH-COCH_3$), соодветно.

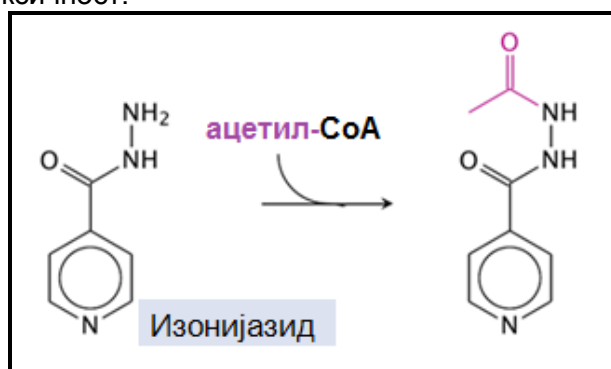
N-ацетилирањето на ксенобиотиците се катализира од страна на цитоплазматичните ензими **N-ацетилтрансферази (NAT)** и бара присуство на кофактор ацетил-коензим A (ацетил-CoA, чијашто структура е прикажана претходно на слика 6.2). Реакцијата се одвива во два последователни чекори, прво, ацетилната групата од ацетил-CoA се пренесува на цистеинските остатоци во активното место на ензимот со ослободување на CoA. Ацетилната група потоа се пренесува врз amino групата на супстратот со регенерација на ензимот. Пример за N-ацетилирање на ксенобиотици катализирано од страна на NAT ензимите е прикажан на слика 6.43. Адицијата на ацетилна група од кофакторот ацетил-коензим A често доведува до формирање на метаболити кои се помалку растворливи во вода, затоа што потенцијалниот јонизиран амин се неутрализира со ковалентното врзување на ацетилната група.



Слика 6.43. Ацетирање на ароматични амини од страна на NAT ензими

N-ацетилтрансферазите се митохондријални ензими, присутни се во црниот дроб и многу други ткива кај повеќето цицачи, освен кај кучињата и лисиците кои поради ова не можат да ацетираат ксенобиотици.

Меѓу сите човекови лек-метаболизирачки ензими, NAT ензимите покажуваат највисок степен на полиморфизам. Карактеризацијата на фенотипот на ацетилатори кај човекот е една од првите наследни особини коишто се идентификувани и всушност е одговорна за развојот на полето на фармакогенетиката. По откривањето дека хидразидот на изоникотинската киселина (изонијазид) може да се користи во лекување на туберкулозата, кај значителен дел од пациентите (5 – 15%) била забележана токсичност која се движи од вкочанетост и пецкање во прстите до оштетување на ЦНС. После откривањето на фактот дека изонијазид се метаболизира со ацетирање (слика 6.44) и се излучува во урината, било забележано дека поединци кои страдаат од токсичните ефекти на лекот излучуваат во најголема количина непроменет лек, а многу малку ацетиран изонијазид. Фармакогенетското истражување довело до класификација на „брзи“ и „бавни“ ацетилатори, при што „бавниот“ фенотип е предиспониран на токсичност.



Слика 6.44. Ацетирање на изонијазид

Постојат два функционални NAT гени кај човекот, NAT1 и NAT2, лоцирани на краткото рамо на хромозомот 8. Секвенцата на овие два гена покажува 85% хомологност и тие кодираат два ензима со различна супстратна специфичност. NAT1 ензимот се експресира во повеќето ткива и е широко распространет, додека NAT2 се експресира само во црниот дроб, тенкото и дебелото црево. Важно е да се забележи дека високата експресија на NAT1 е поврзана со случаи на развој на рак кај поединци. Карактеризирани се околу 25 алелни варијанти на NAT1 и NAT2 и кај лицата кај кои ацетирањето на лекови е компромитирано, присутен е хомозиготен генотип за најмалку два варијантни алели кои ја обезбедуваат предиспозицијата кон забавен

метаболизам на лекови. Полиморфизмот во NAT2 генот и неговата поврзаност со бавното ацетитирање на изонијазид е еден од првите целосно карактеризирани генотипови за кои е покажано дека влијаат на метаболизмот на лекови (со што се поврзува фармакогенетскиот фенотип со генетскиот полиморфизам).

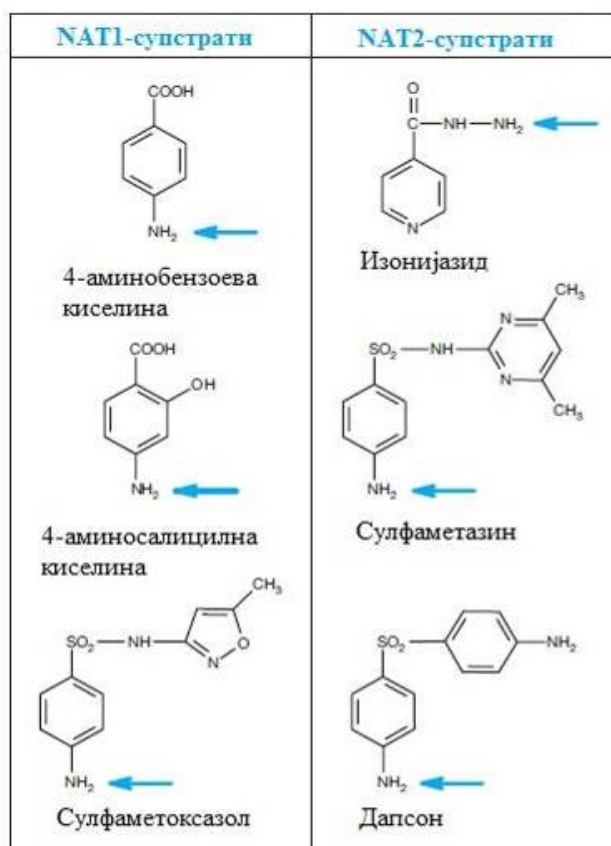
Определувањето на ацетилаторскиот фенотип на индивидуата може едноставно да се утврди со едноставен HPLC метод со користење на соодносот моноацетилдапсон/дапсон (дапсон е лек супстрат за NAT2) определен во примерок плазма. Може да се користи и метод со определување на концентрацијата на метаболитите на кофеин во урина (кофеинот не е директен супстрат за ацетитирање). Иако се идентификувани мутации и во NAT1 генот скоро во еднаков број како во генот NAT2, фреквенцијата на „бавните“ ацетилатори се припишува главно на полиморфизам во генот NAT2.

Специфични супстрати-лекови кои се предмет на ацетитирање и нивната позната токсичност се наведени во табела 6.2, а структурите на некои од нив се прикажани на слика 6.45. Терапевтската релевантност на NAT-полиморфизмот е во можноста за избегнување на лек-индуцираната токсичност. Одговорот со несакани дејства на лекови кај бавните ацетилатори е проблем при дозирањето на лекови и во овој случај се препорачува намалување на дозата или пак зголемување на интервалот на дозирање. Лекови кои содржат ароматична аминокислотина или пак хидразинска група постојат во многу од класите на лекови кои се користат во клиничката пракса и ако е познато дека лекот е предмет на метаболизам преку ацетитирање, потврдувањето на фенотипот на поединецот може да биде многу важно. На пример, хидралазин, некогаш многу популарниот антихипертензивен (вазодилаторен) лек се метаболизира од NAT2. Администрацијата на терапевтски дози на хидралазин кај „бавните“ ацетилатори може да резултира во екстремна хипотензија и тахикардија. Некои лекови, како што се сулфонамиди, кои се познати супстрати за ацетитирање се вклучени во развојот на идиосинкрални хиперсензитивни реакции (во вакви случаи, идентификацијата на ацетитирачкиот фенотип на пациентот е особено важно). Сулфонамидите се трансформираат во хидроксиламини кои стапуваат во интеракција со клеточните протеини, генерирајќи хаптени кои може да предизвикаат автоимунни реакции (слика 6.46). Индивидуи кои се бавни ацетилатори се предиспонирани за автоимунни нарушувања индуцирани од овие лекови.

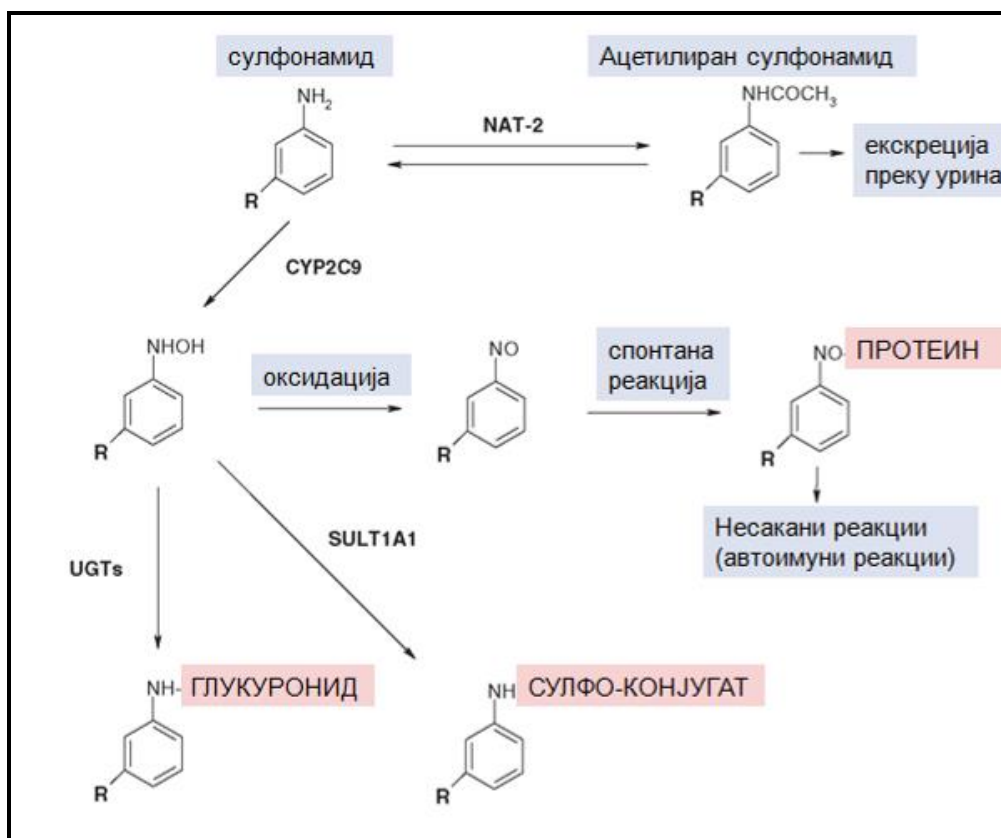
Табела 6.2. Индикации и несакани ефекти од лекови кои се метаболизираат од страна на N-ацетилтрансферазите

Лек	Индикација	Несакани ефекти
Ацебутолол	Аритмија, хипертензија	Поспаност, слабост, несоница
Амантадин	Инфлуенца А, паркинсонизам	Загуба на апетит, вртоглавици, главоболка, кошмари
4-аминобензоева киселина	Проблеми со кожа, средства за заштита од сонце	Раздразнет желудник, контактна сензитивност
Аминоглутетимид	Карцином на кора на надбубрежни жлезди, канцер на дојка	Нерамнотежа, наузеа, вртоглавици, агранулоцитоза
4-аминосалицилна киселина	Улцеративен колитис	Алергиска треска, чешање, леукопенија
Амонафрид	Канцер на простата	Миелосупресија
Бензокаин	Локална анестезија	Дерматитис, чешање, цевенило, метхемоглобинемия
Кофеин	Неонатален респираторен дистрес синдром	Вртоглавици, несоница, тахикардија
Клоназепам	Епилепсија	Атаксија, вртоглавици, нејасен говор
Дапсон	Дерматитис, лепра, ХИВ-поврзани синдроми	Наузеа, повраќање, хиперекситабилност,

Дипирон, метамизол	Аналгезија	метхемоглобинемија, дерматитис Агранулоцитоза
Хидралазин	Хипертензија	Хипотензија, тахикардија, главоболки
Изонијазид	Туберкулоза	Периферен невритис, хепатотоксичност
Фенелзин	Депресија	Екситација на ЦНС, несоница, ортостатска хипотензија, хепатотоксичност
Прокаинамид	Вентрикуларна тахикардија	Хипотензија, системски лупус еритематозус
Сулфонамиди	Антибактериски агенси	Хиперсензитивност, хемолитичка анемија, треска
Нитразепам	Несоница	Вртоглавици, поспаност



Слика 6.45. Примери за супстрати за N-ацетилтрансферазите кај човекот



Слика 6.46. Метаболизам на сулфонамидни лекови

Познати се инхибиторни ефекти на полифенолните соединенија врз човековите NAT ензими. Кафеинската киселина, ескулетин, кверцетин, камферол и генистеин го инхибираат NAT1, додека скопулетин и кумарин го инхибираат NAT2.

Постојат и податоци од истражување кои го опишуваат инхибиторниот ефект на диалил сулфид (DAS) и диалил дисулфид (DADS), главните компоненти присутни во лукот, врз NAT-активноста во клеточни култури на човечки туморски клетки и промиелоцитни клетки на леукемија. Овие студии демонстрираат дека DAS и DADS значително ја инхибираат NAT1 активноста кај овие клетки од каде што може да се објасни нивното учество во антиканцерната заштита на организмот.

6.6. Конјугација со аминокиселини

Ксенобиотиците со карбоксилна киселинска група како лекови (симвастатин, валпроична киселина, ацетилсалицилна киселина), хербициди, инсектициди или конзерванси во храна може да реагираат со амино групата на аминокиселините (најчесто) глицин, глутамин и таурин (слика 6.2).

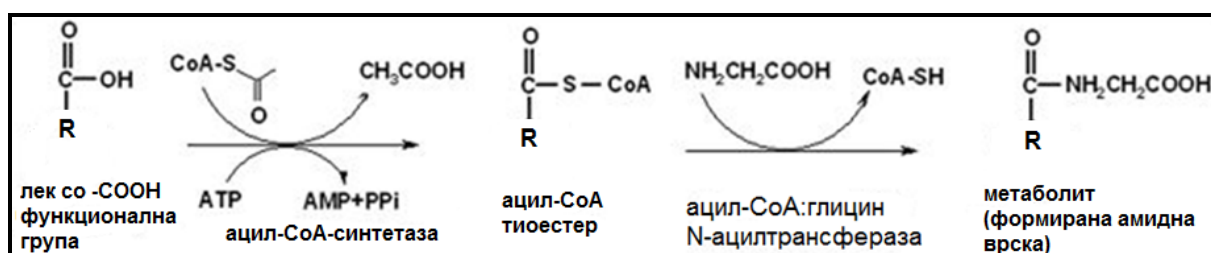
Многу од ксенобиотиците може претходно (преку реакции од Фаза I) да се метаболизираат до интермедиери кои содржат карбоксилна група, па потоа да се подложат на реакции на конјугација со аминокиселини.

Механизмот на конјугација со аминокиселини прво вклучува чекор на активирање на ксенобиотиците со конјугација со CoA катализиран од ацил-CoA синтетазата, при што се добива ацил-CoA тиестер кој потоа реагира со аминокиселината за да се формира амидната (пептидна) врска (слика 6.47).

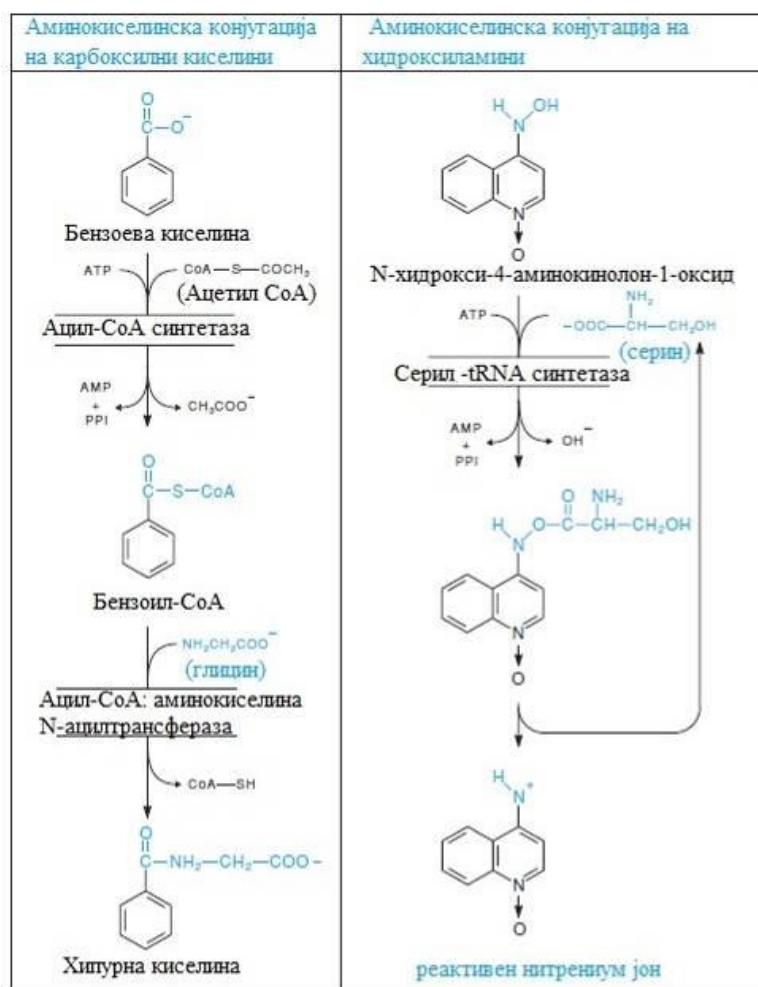
Способноста на ксенобиотиците да се подложат на конјугација со аминокиселини зависи од просторните (стерични) пречки на карбоксилната група, како и од супституентите на ароматичниот прстен или алифатичната странична низа. Стеричните ефекти произлегуваат од фактот дека секој атом во молекулата има

определена просторна зафатнина. Ако атомите се премногу блиску еден до друг, постои зголемување на енергијата поради препоклопување на електронските густини што резултира со предиспозиција кон определена конформација (*R* или *S*) и реактивност.

Конјугацијата со аминокиселини е најважен начин на детоксикација, не само за многу ксенобиотици кои содржат карбоксилна група, но исто така и за ендогените киселини. Всушност, постојат две можности при конјугација на ксенобиотиците со аминокиселини. Првата е детоксикација, додека втората е можна активација и формирање на реактивни јони (слика 6.48). Вториот случај е карактеристичен за ксенобиотиците со ароматични хидроксиламински групи кои можат да се конјугираат со карбоксилната група на аминокиселините како пролин или серин за производство на *N*-естери, кои потоа може да се деградираат и да формираат реактивни, електрофилни нитрениум или карбониум јони.



Слика 6.47. Општ механизам на реакција на конјугација со аминокиселини

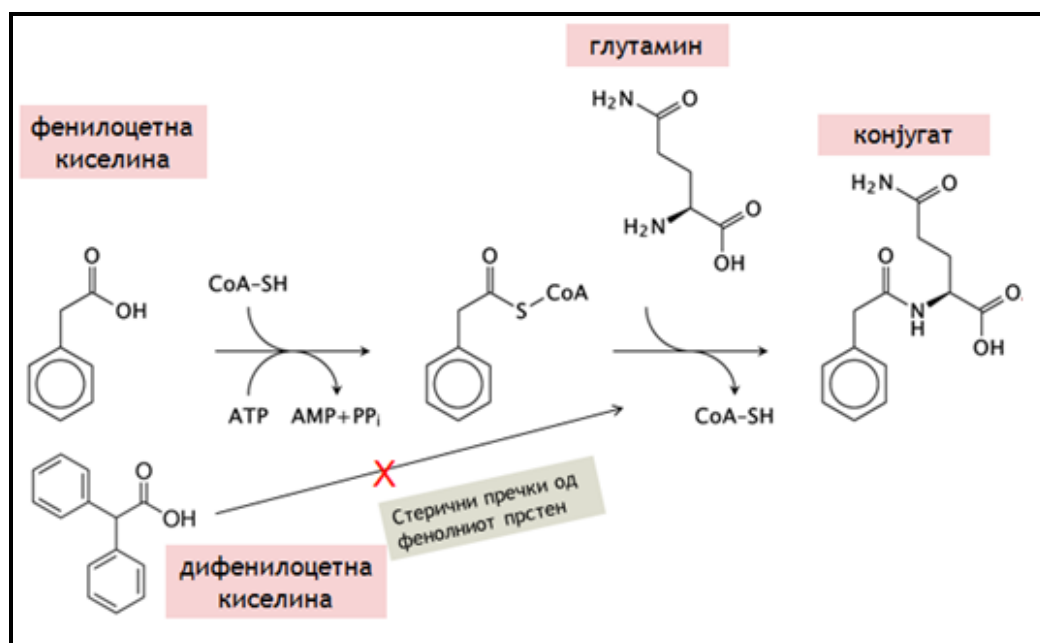


Слика 6.48. Конјугација на ксенобиотици со аминокиселини

Конјугацијата на бензоевата киселина со глицин до формирање на хипурна киселина (слика 6.48) е првата откриена реакција на метаболизирање на супстанца во човековиот организам. Првиот чекор во оваа конјугациска реакција вклучува активација на бензоевата киселина до ацил-КоА тиестер. Оваа реакција има потреба од АТФ и се катализира преку ацил-КоА синтетаза. Вториот чекор се катализира преку ацил-КоА:(аминокиселина)-N-ацилтрансфераза, која врши пренесување на ацил групата од ксенобиотиот до аминок групата на акцепторната аминокиселина.

Супстратите за аминокиселинска конјугација се ограничени на одредени алифатични, ароматични, хетероароматични, циметни и арилоцетни киселини. Стеричната структура околу карбоксилната група и супституцијата на ароматичните прстени на алифатичните странични ланци на киселините-супстрати се важни и за разликите во реакциите на конјугацијата.

На пример, кај определени животински видови (стаорци, ласици и мајмуни), главната патека на биотрансформација на фенилоцетна киселина е аминокиселинската конјугација (слика 6.49). Сепак, како резултат на стерните пречки, дифенилоцетната киселина не може да се конјугира со аминокиселина, па затоа главната патека за биотрансформација на дифенилоцетната киселина кај овие три животински видови е глукуронидацијата.



Слика 6.49. Конјугација на фенилоцетна киселина со глутамин

Жолчните киселини се ендогени супстрати за конјугација со таурин и глицин преку митохондријалниот ензим холил-КоА синтетаза. Важна разлика меѓу аминокиселинските конјугати на ксенобиотиците и на жолчните киселини е нивниот пат на елиминација.

Жолчните киселини се секретираат во жолчката, додека аминокиселинските конјугати на ксенобиотиците се елимираат примарно со урината.

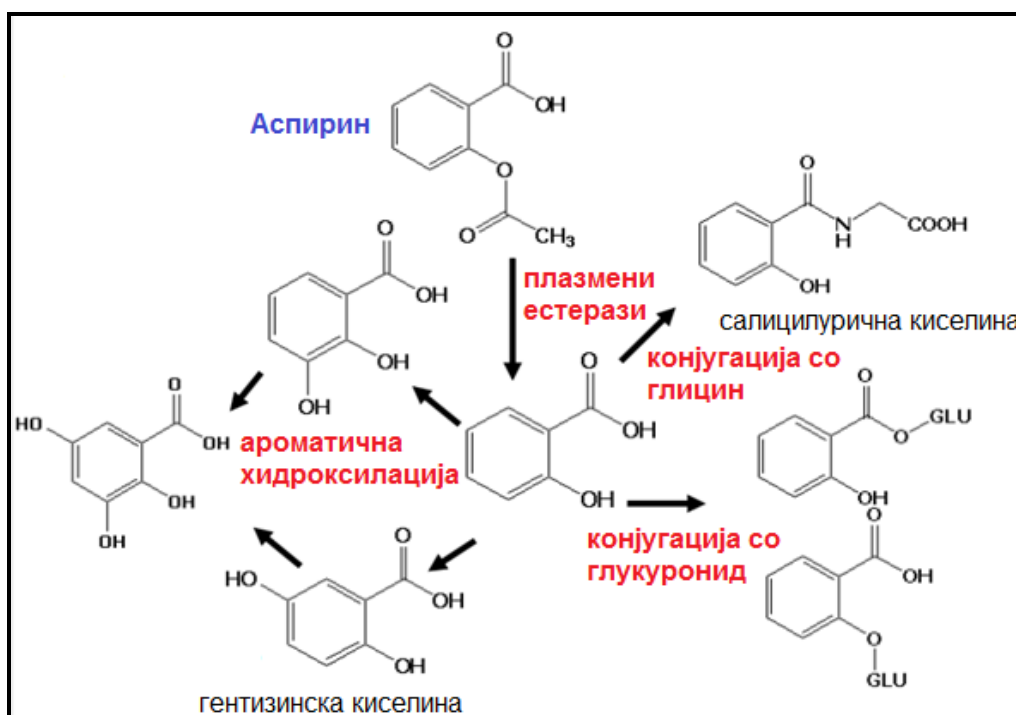
Затоа, додавањето на ендогени аминокиселини во фармацевтските формулации на лековите може да ја олесни нивната елиминација преку зголемување на нивната способност за интеракција со тубуларниот систем за транспорт на органски аниони во бубрезите.

Како дополнително на глицин, глутамин и таурин, акцепторни аминокиселини за конјугација на ксенобиотици може да бидат и орнитин, аргинин, хистидин, серин, аспартамска киселина и неколку дипептиди како глицилглицин, глицилтурин и глицилвалин. Акцепторната аминокиселина е зависна од животинскиот вид и од

ксенобиотикот. За бензоевата, хетероцикличните и циметните киселини акцепторна аминокиселина обично е глицинот. Арилоцетните киселини, исто така, се конјугираат со глицин освен кај приматите каде се користи глутамин. Кај цицачите, за конјугација исто така се користи и тауринот како генерално алтернативен акцептор наместо глицин. Конјугацијата со таурин е добро развиена кај цицачите и месојадните животни. Додека повеќето видови од овие две класи ги конјугираат жолчните киселини со глицин и таурин, како исклучок, кучињата и мачките ги конјугираат жолчните киселини само со таурин.

Конјугацијата на ксенобиотиците кои содржат карбоксилна група е алтернатива на глукуронидацијата. Конјугацијата со аминокиселини е детоксикациска реакција, додека глукуронидацијата на ксенобиотиците кои содржат карбоксилна група може да продуцира и потенцијално токсични глукурониди. Аминокиселинската конјугација на ибупрофен и сличните лекови од класата профени (НСАИЛ кои во структурата имаат 2-метилсупституирана пропионска киселина) е значајна од две причини. Го ограничува формирањето на потенцијално токсични ацилглукурониди и второ, води до хирална инверзија на молекулата.

Главниот метаболит на друг претставник од НСАИЛ, ацетилсалицилната киселина, е салицилурична киселина која претставува конјугат на салицилната киселина со глицин. Околу 76 % од внесената доза на ацетилсалицилната киселина се метаболизираат токму преку конјугација со аминокиселини (слика 6.50).

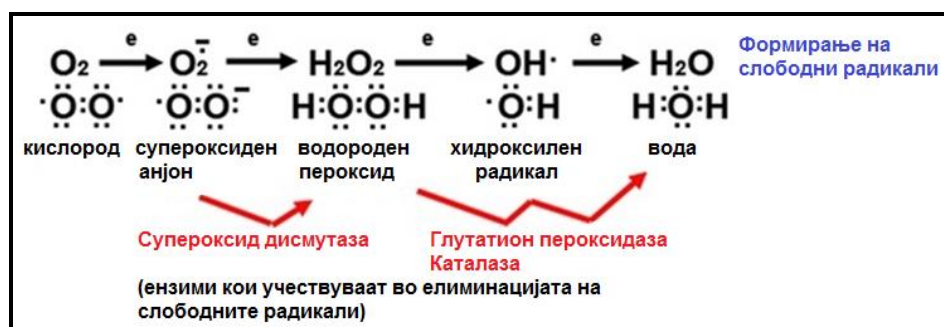


Слика 6.50. Метаболизам на ацетилсалицилна киселина (аспирин)

6.7. Конјугација со глутатион

Глутатион S-трансферазите (GST) се едни од главните детоксификациски ензими од Фаза II вклучени во метаболизмот на ксенобиотиците, а имаат и важна улога во ендегената заштита на клетката од оксидативниот стрес. Главната ендегена функција на GST е токму одбрана од токсичните електрофили и реактивните слободни кислородни радикали (ROS) како што се супероксидниот радикал, хидроксилниот радикал или супероксидниот анјон, кои се формираат при физиолошките метаболички

процеси (многу од овие ROS се формираат при оксидативните реакции катализирани од CYP или други оксидазни ензими) (слика 6.51).



Слика 6.51. Процес на формирање на кислородни слободни радикали

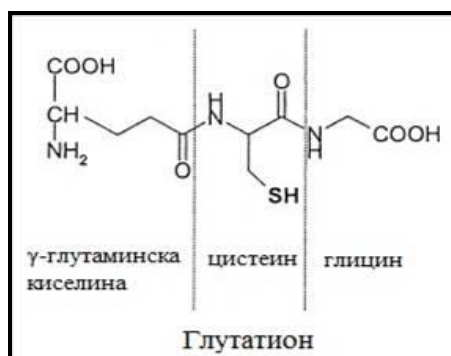
GST како дел од одбранбениот механизам против реактивните соединенија на кислородот го редуцираат формирањето на хидропероксида на масни киселини, фосфолипиди, холестерол и редокс циклусот на некои соединенија кои содржат хинон. GST ензимите исто така играат улога и во други ендогени функции како што се деградација на ароматични аминокиселини, синтеза на стероидни хормони, синтеза и деактивирање на еикосаноидите и модулација на сигналните патишта.

GST се фамилија на цитозолни или митохондрални ензими кои се присутни во повеќето ткива, со највисока концентрација во црниот дроб, цревата, бубрезите, надбубрежните жлезди и белите дробови. Кофактор во реакциите катализирани од GST е **глутатион (GSH)**. Глутатионот е трипептид составен од **глицин, цистеин и γ-глутаминска киселина** (слика 6.52). Во прилог на важноста за конјугација на ксенобиотиците со GST, сериозното намалување на содржината на GSH може да биде причина за оксидативно оштетување на клетките, состојба која е поврзана со голем број нарушувања на здравјето кај луѓето.

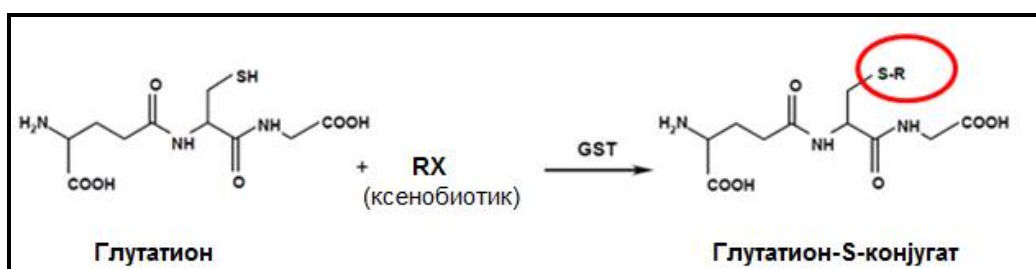
Глутатионот постои во клетките во оксидирана (GSSG) или редуцирана форма (GSH). Соодносот GSH:GSSG е од клучно значење за одржувањето на клеточната средина во редуцирана состојба и спречување на оксидативниот стрес кој може да води до апоптоза и клеточна смрт. Овој сооднос (GSH:GSSG) може да се пресмета од вкупниот глутатион (GSH+GSSG) и оксидираниот глутатион (GSSG).

При формирањето на конјугати со глутатион, реакцијата генерира тиестерна врска меѓу лекот или ксенобиотикот со цистеинскиот остаток на трипептидот (слика 6.53).

Конјугацијата со глутатион се случува со широк спектар на електрофилни соединенија или соединенија кои можат да бидат трансформирани во електрофилни. Супстратите за GST имаат три заеднички карактеристики: а) тие се хидрофобни, б) содржат електрофилен атом и в) реагираат хемиски со глутатионот до даден степен. Затоа, супстратите за GST може да се класифицираат во две групи: 1) оние кои се доволно електрофилни за директна конјугација и 2) супстрати кои се подложни на биотрансформација до електрофилен метаболит пред конјугацијата.

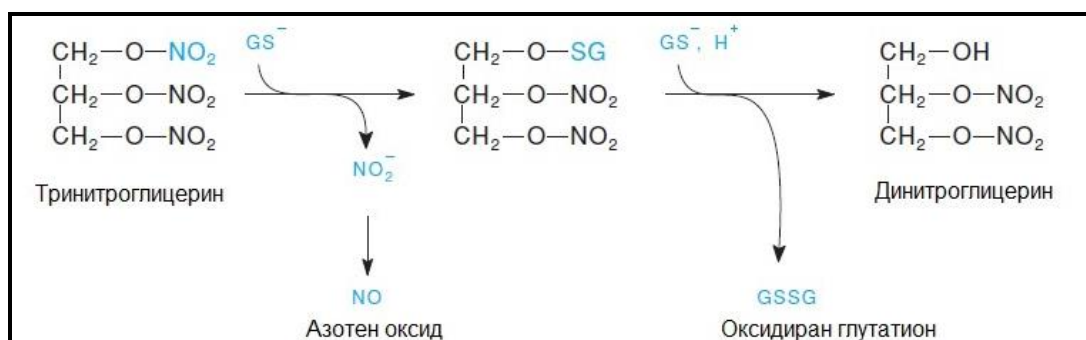


Слика 6.52. Структура на глутатион



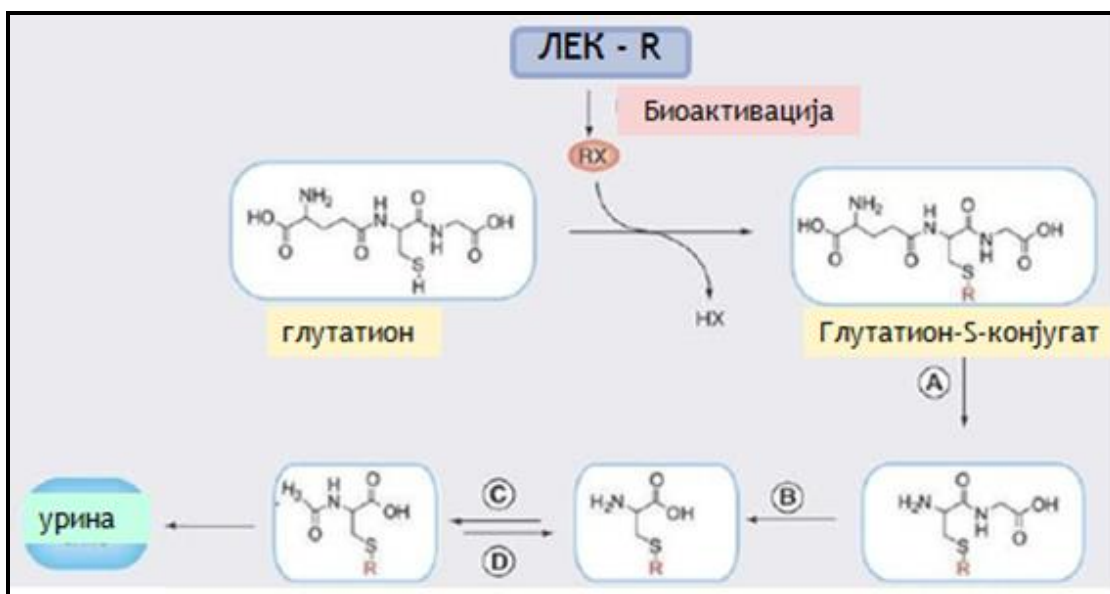
Слика 6.53. Конјугација на глутатион со електрофилен ксенобиотик

Глутатионот, најчесто конјугира ксенобиотици со електрофилни хетероатоми во структурата (O, N, и S). Еден пример за ова е лекот тринитроглицерин (слика 6.54). Во многу случаи, почетниот конјугат формиран помеѓу глутатионот и хетероатомот се расцепува од страна на втора молекула на глутатион за да се формира оксидиран глутатион. Вториот чекор обично е со неензимска природа.



Слика 6.54. Примери за конјугација на глутатион и лек кој содржи во структурата електрофилни хетероатоми

Глутатионските конјугати може да се екскретираат непроменети во жолчката или може да се трансформираат до меркаптурни киселини во бубрезите и да се излучуваат во урината (слика 6.55).



Слика 6.55. Формирање на лек-глутатион конјугати и нивна деградација во лек-меркаптурат конјугат

Легенда: (A) γ-глутамилтранспептидаза, (B) дипептидаза, (C) цистеин конјугат-N-ацетилтрансфераза и (D) N-деацетилаза; RX- реактивни слободни радикали.

Идентификувани се над дваесет GST изоформи кај човекот кои се поделени во две потфамилии: цитозолни и митохондрални форми.

Главните разлики во функцијата помеѓу митохондралните и цитозолните GST се во изборот на супстрати за конјугација. Цитозолните форми имаат повеќе значење во метаболизмот на лековите и ксенобиотиците, додека митохондралните GST се важни за ендогениот метаболизам на простагландини и леукотриени.

Цитозолните форми на GST се поделени во седум класи наречени алфа (GSTA1 и 2), ми (GSTM1 до 5), омега (GSTO1), пи (GSTP1), сигма (GSTS1), тета (GSTT1 и 2) и зета (GSTZ1). Цитозолните форми на GST катализираат реакции на конјугација, редукција и изомеризација.

Високите концентрации на GSH во клетката (редуцирачки еквивалент), како и содржина на GST над вообичаените, значи дека многу малку од реактивните молекули може да избегнат детоксикација.

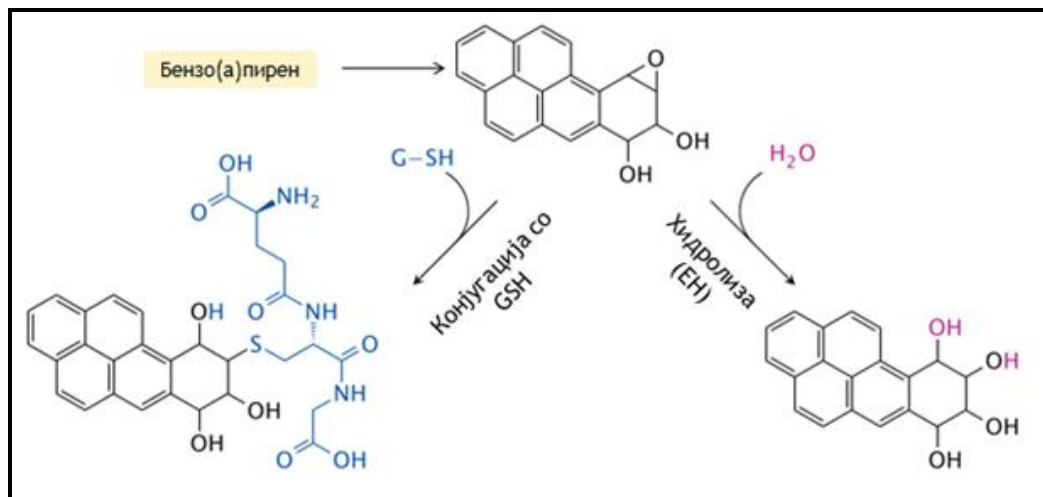
Пример за соединение кај кое конјугацијата со глутатион е реакција на детоксикација со што се избегнува можноста за формирање на адукти со ДНК е бензо(а)пирен (слика 6.56). Бензо(а)пирен е ксенобиотик кој генерира токсични метаболити во текот на неговото метаболизирање. Благодарение на определени ензими тие може да бидат инактивирани пред да можат да реагираат со ДНК со што се намалува нивниот канцероген ефект. Главните реакции кои обезбедуваат детоксикација на овие метаболити се хидролиза катализирана од EH и конјугација со GSH катализирана од GST.

Сепак, и покрај ова, секогаш постои можност дека некои реактивни молекули (слободни радикали) ќе избегнат детоксикација и во зависност од нивната природа и електрофилност, ќе се врзат со клеточните компоненти и ќе предизвикаат токсичност.

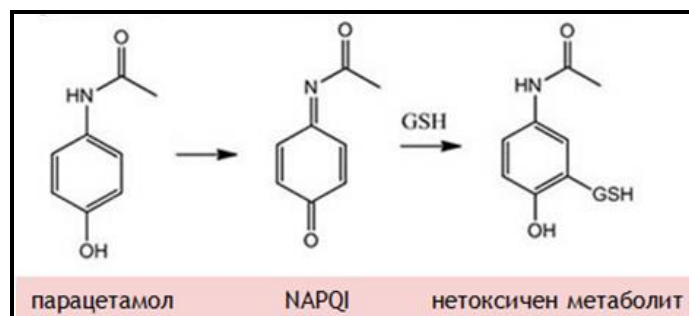
Потенцијалот за оваа појава е зголемен ако GSH е осиромашен (истрошен) или ако некоја специфична форма на GST е полиморфна. Иако е тешко да се осиромашат клеточните нивоа на GSH, сепак терапевтските агенции за кои се потребни високи дози за да бидат клинички ефикасни, имаат најголем потенцијал за намалување на клеточните нивоа на GSH.

Ацетаминофенот, којшто нормално се метаболизира преку глукуронидација и сулфатирање, исто така е супстрат и за оксидативен метаболизам катализиран од

CYP2E1 при што се генерира токсичниот метаболит N-ацетил-*p*-бензохинонимин (NAPQI) (слика 6.57). Предозирањето со ацетаминофен може да доведе до осиромашување на клеточните нивоа на GSH, со што се зголемува потенцијалот на NAPQI за комуникација со други клеточни компоненти. Токсичноста на ацетаминофен е поврзана токму со зголемување на нивото на NAPQI и тивната некроза.



Слика 6.56. Конјугациски реакции за детоксикација на бензо(а)пирен



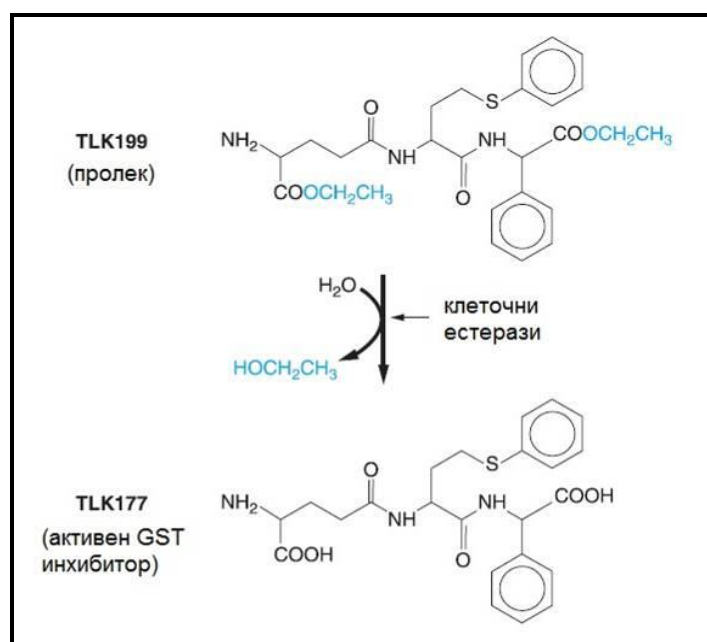
Слика 6.57. Метаболити на парацетамол

Како и голем број од ензимите кои се вклучени во метаболизмот на лекови и други ксенобиотици, сите GST изоформи може да бидат полиморфни. Генотиповите *ми* (GSTM1*0) и *мета* (GSTT1*0) може да изразат „нул“ фенотип. Поради ова, поединци кај кои е присутен полиморфизам на овие локуси се предиспонирани за токсичност од страна на агенси кои се селективни супстрати токму за овие GST изоформи. На пример, GSTM1*0 алелот е забележан кај 50% од белата раса и генетски се поврзува со малигните заболувања на белите дробови, дебелото црево и мочниот меур. Нулева активност на GSTT1 генот е поврзана со несакани ефекти и токсичност при хемотерапија со лекови цитостатици (токсичноста е резултат од недоволното излачување на лекот преку конјугација со GSH).

Додека GST играат важна улога во клеточната детоксикација, нивната активност во канцерните ткива е поврзана со развојот на резистентност кон лековите од групата на хемотерапевтски агенси кои се всушност и супстрати за GST. Многу од антиканцерните лекови се терапевтски ефикасни преку иницирање клеточна смрт (апоптоза) која е поврзана со активирање на митоген-активирана протеин киназа (MAP киназа) како што се JNK и p38 во канцерните клетки. Испитувањата покажале дека прекумерната експресија на GST е поврзана со резистентност кон апоптоза и инхибиција на MAP-киназната активност. Кај многу различни тумори, има прекумерно експресирани нивоа на GST, што доведува до намалување на активноста на MAP-

киназата и намалена ефикасност на хемотерапијата. Земајќи го како предност релативно високото ниво на GST во туморските клетки, инхибицијата на GST активноста се користи како терапевтска стратегија за моделирање на резистентноста кон лекови преку сензибилизација на туморите кон антиканцерните лекови. TLK199, соединение аналог на глутатионот, служи како пролек кој се подложува на активирање од плазмените естерази до соединението TLK117 (кое е GST инхибитор), со што се потенцира токсичноста на различни антиканцерни агенси (слика 6.58).

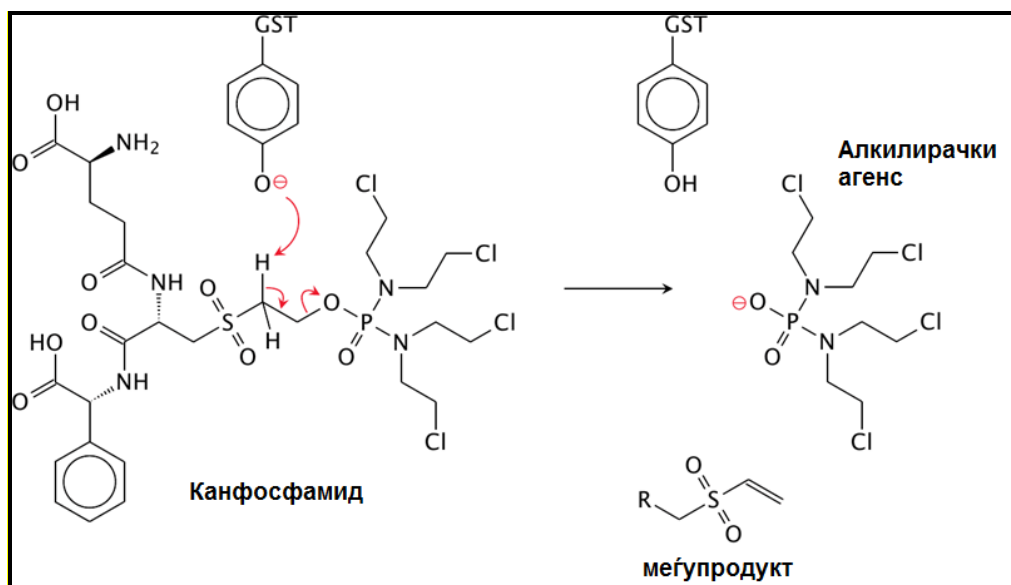
Високото ниво на GST активност во канцерните клетки се користи и за развивање на пролекови кои може да се активираат од страна на GST до формирање на електрофилни посредници. Соединението TLK177 е супстрат за GST кој се подложува на β -елиминациона реакција формирајќи глутатион конјугат и азотен алкилирачки агенс кој е способен за алкилирање на клеточните нуклеофили што резултира со антитуморна активност.



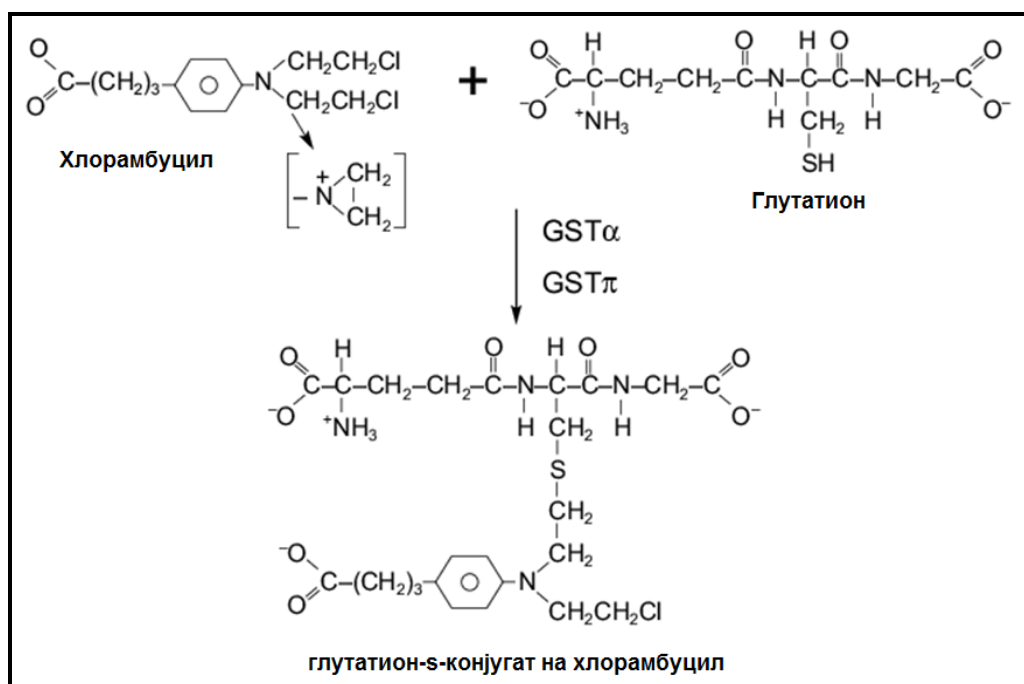
Слика 6.58. Активирање на TLK199 од страна на клеточните естерази до TLK117 (инхибитор на глутатион-S-трансфераза (GST))

Глутатионот реагира со многу цитотоксични соединенија кои се реактивни кон клеточните нуклеофили. Многу такви соединенија се користат за терапија како антиканцерни лекови. За време на третманот, канцерните клетки може да станат резистентни кон овие лекови преку мутации кои ја зголемуваат експресијата на GST. Антиканцерниот лек канфосфамид е дизајниран за да се заобиколи настанувањето на овој механизам на резистенција. Молекулата на канфосфамид, која има структура која наликува на глутатион, се расцепува наместо да се алкилира од GST (слика 6.59). Со активирање на оваа реакција овој лек е поактивен во туморските клетки кои всушност имаат прекумерна експресија на ензимот GST. Канфосфамид е цитотоксичен токму поради неговите реактивни хлороетиламински групи кои реагираат со клеточните нуклеофили. Овие групи се веќе присутни во самата молекула на канфосфамид и не се вклучени во GST-посредуваното расцепување.

Друг хемотерапевтски агенс, директен алкилирачки агенс, е хлорамбуцилот чијашто конјугациска реакција со глутатион е прикажана на слика 6.60. SH групата на глутатионот се врзува со реактивната група на хлорамбуцил. GST(α) и GST(π) се изоформите на глутатион S-трансфераза кои ја катализираат реакцијата.



Слика 6.59. Активација на канфосфамид од страна на GST



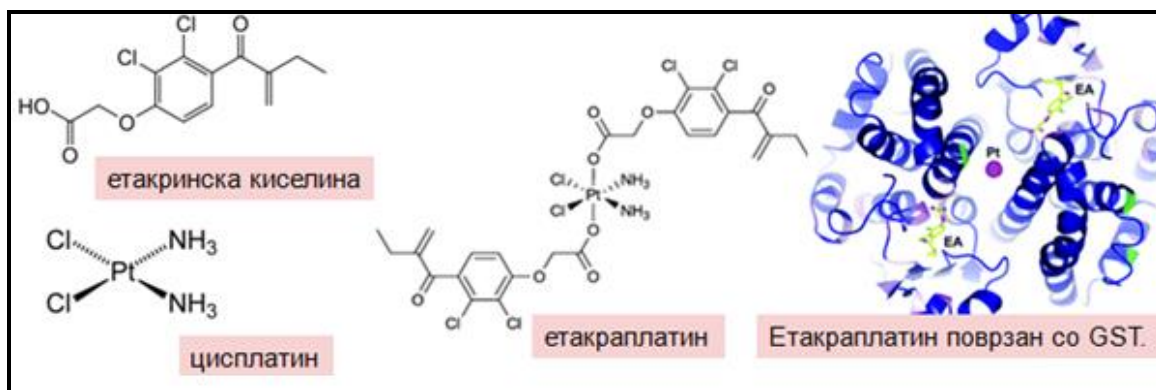
Слика 6.60. Реакција меѓу алкилирачки агенс (хлорамбуцил) со глутатион и формирање на конјугат

Постојат голем број инхибитори на GST чијшто многу важен ефект е модулацијата на резистенцијата кон антиканцерните лекови со што се зголемува чувствителноста на канцерните клетки кон лекот (подобрен тераписки ефект). Познато е инхибиторното дејство врз GST, на пример на синтетските и природните феноли, хиноните и дериватите на витамин С, потоа допамин, α -метилдопа и др.

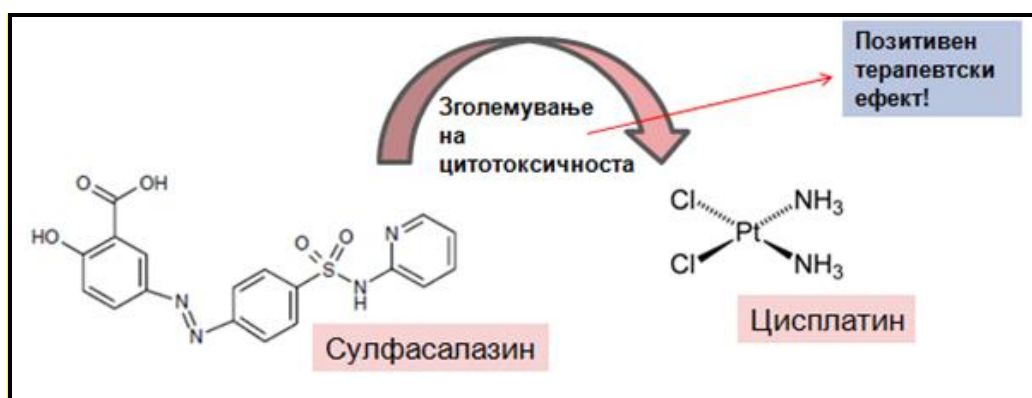
Од друга страна пак, експериментално во човечки клеточни култури е покажано индукторното дејство на екстрактот од *Ginkgo biloba*, а дополнително се откриени и други видови храна со индукторно дејство како што се зелјестиот зеленчук (брокула, зелка, карфиол) и сокот од грејпфрут.

Првите клинички студии на модулаторниот инхибиторен ефект се направени на лек веќе одобрен за употреба, но со друга индикација, етакринска киселина. Утврдено е дека етакринската киселина го потенцира цитотоксичниот ефект на антиканцерните лекови хлорамбуцил и цисплатин. Етакринската киселина го инхибира ензимот GST врзувајќи се директно со местото за врзување на супстратот на изоензимот, како и со исцрпување на кофакторот GSH преку конјугација со тиолната група на GSH (слика 6.61). Бидејќи клиничката употреба на етакринска киселина е ограничена поради нејзините диуретични својства и недостатокот на изоензимска специфичност, се прават напори за развој на други инхибитори на GST со пооптимална изоензимска специфичност и клиничка апликација.

Сулфасалазинот се користи како лек за третирање на воспаление на цревата и ревматоиден артритис. Овој лек е исто така и познат инхибитор на α , μ и π GST изоензимите. Се покажало дека во случај на канцер на белите дробови каде постои прекумерна експресија само на π класата на GST, овој лек води до зголемување на цитотоксичниот ефект на антиканцерниот лек, цисплатин, што резултира со зголемена ефикасност на терапијата (слика 6.62). Лекот е клинички тестиран кај пациенти кои страдаат од напредни форми на канцер на бел дроб.



Слика 6.61. Формиран комплекс помеѓу етакринска киселина (EA) и цисплатин



Слика 6.62. Позитивна интеракција помеѓу сулфасалазин и цисплатин

7. ФАРМАКОГЕНЕТИКА

Фармакогенетиката претставува проучување на генетската основа на варијациите во одговорот кон лекови (вклучувајќи ја неговата дистрибуција, безбедност, толерантност и ефикасност). Во поширока смисла, фармакогенетиката всушност ја опфаќа фармакогеномиката во која се вклучени алатки за истражување на целиот геном за да се проценат мултигенетските детерминанти на одговорот кон лекови. Фармакогенетиката игра важна улога во развојот на подобри лекови за населението и целни терапии со подобрен корист/ризик сооднос за секоја индивидуа (слика 7.1).



Слика 7.1. Дијаграм кој го покажува значењето на фармакогенетиката за фармакотерапијата

Сè до техничкиот напредок во генетиката во последните неколку години, фармакогенетиката го користи исклучиво генетскиот „фенотип-до-генотип“ пристап. Параметрите на одговорот кон лекови биле споредувани со параметрите кај индивидуи со „нормален“ одговор кон лекови за да се идентификува фармаколошката основа на променетиот одговор. Наследната компонента на одговорот кон лекови е демонстрирана со користење на студии на припадници на едно исто семејство. Со развојот на технологијата во генетиката, се воведува обратен генетски пристап, „генотип-до-фенотип“ при што генетските полиморфизми служат како појдовна точка за да се процени дали генетската варијабилност се претвора во фенотипска варијабилност.

Одговорот кон лекови е всушност одговор на поединецот кон лек зависен од комплексната интеракција помеѓу фактори од животната средина и генетските фактори (табела 7.1). Варијациите во одговорот кон лекови затоа може да се објаснат со варијација во факторите од животната средина и генетските фактори, сами или во комбинација. Колкав процент во отстапувањето на одговорот кон лекови најверојатно ќе биде генетски детерминиран? Класичните семејни студии обезбедуваат дел од информациите, но бидејќи проценката на дел од фенотипската варијабилност што е последица на генетски фактори во фармакогенетиката обично бара администрација на лек на близнаци или тројки меѓу членовите на едно семејство, овие податоци се ограничени.

Студиите на близнаци покажале дека метаболизмот на лекови е во голем дел наследен, со генетски фактори кои придонесуваат за поголемиот дел од варијациите во брзината на метаболизмот за многу лекови. Пример се резултатите од студија на близнаци во која е определуван полуживотот на антипирин. Антипиринот, аналетик од групата на пиразолони, се елиминира исклучиво преку метаболизирање како супстрат за повеќе CYP ензими. Постои значително поголема усогласеност во полуживотот на антипирин меѓу паровите на монозиготните (идентични) близнаци во споредба на

дизиготните (братски) парови близнаци. Споредбата на интра- наспроти интер-близначката варијабилност сугерира дека околу 75% до 85% од варијабилноста во фармакокинетичкиот полуживот на лековите кои се елиминираат метаболизирани е наследна. Затоа што повеќе генетски фактори придонесуваат за диспозицијата на антипирин, од кои повеќето имаат неразјаснети механизми на генетска варијабилност, предвидливоста на диспозицијата на антипирин врз основа на познатата генетска варијабилност не е комплетна.

Табела 7.1. Егзогени и ендогени фактори кои придонесуваат за варијации во одговорот кон лекови

Одговор кон лекови = Генетска конституција + :	
Возраст	Исхрана
Пол	Кардиоваскуларна функција
Бременост	Гастроинтестинална функција
Физичка активност	Имунолошка функција
Болест	Хепатална функција
Инфекции	Бубрежна функција
Професионална изложеност	Треска и висока телесна температура
Лекови конкуренти (интеракции)	Стрес
Циркадни и сезонски варијации	Алкохол
Суплементи на храна	

Другиот пристап за проценување на степенот на наследноста на фармакогенетскиот фенотип користи *ex vivo* експерименти со клеточни линии добиени од роднински поврзани лица. Се користи интер- наспроти интра-семејната варијабилност и врските меѓу членовите сродници за да се процени наследноста. Користењето на овој пристап во студии со лимфобластоидни клетки, покажал наследност на цитотоксичноста предизвикана од хемотерапевтски агенси, при што околу 20% до 70% од варијабилноста во чувствителноста на лековите 5-флуороурацил и доцетаксел се проценува како наследна, во зависност од аплицираната доза.

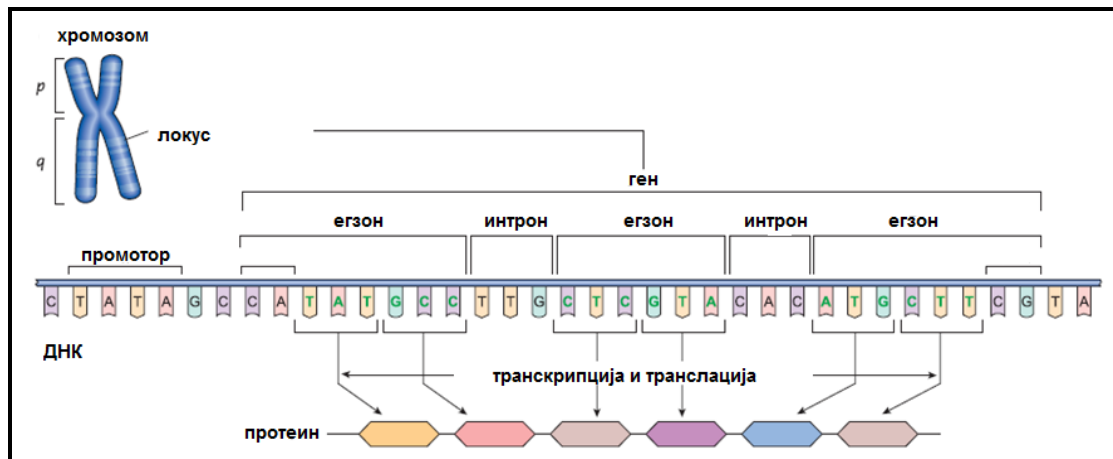
7.1. Видови на генски варијанти – генетска основа на фармакогенетиката

Гените се лоцирани на хромозомите, кои се долги секвенци на ДНК. Генот е секвенца од ДНК единици, т.е. нуклеотиди (аденин [A], цитозин [C], гванин [G] и тимин [T]). За ген кој кодира одреден протеин, редоследот на нуклеотидите ја диктира токму структурата на РНК-интермедиерите и крајниот синтетизиран протеин. Секој ген и неговата поврзана ДНК може да се поделат на сегменти: а) Промоторски регион: одговорен за започнување со синтезата на РНК-интермедиерите; б) Егзони: сегменти кои се транскрибираат во РНК интермедиерите, а потоа со транслација ја определуваат секвенцата на аминокиселините во протеинот-продукт; в) Интрони: сегменти кои се транскрибираат во РНК, но се бришат пред транслација (не кодираат аминокиселини). Како пример е земен хромозомот 15 и хипотетички ген на позиција 25 на долгото рамо (q) на хромозомот илустриран на слика 7.2.

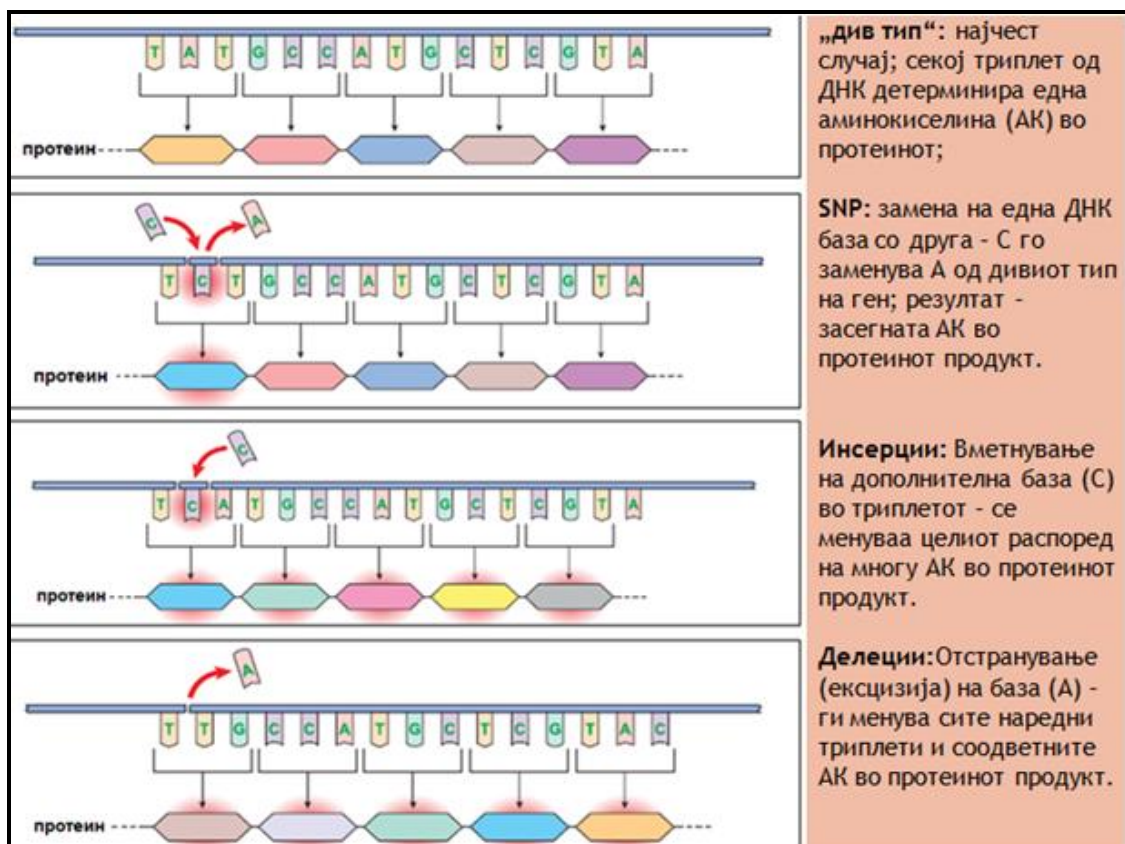
Генетски полиморфизам е варијација во ДНК секвенцата која е присутна барем во 1% или повеќе од фреквенцијата на алели во една популација. Два главни вида на варијации во секвенцата се поврзани со разликите во човековиот фенотип:

- Единичен нуклеотиден полиморфизми (*Single Nucleotide Polymorphism*, SNP) и
- Инсерции/делеции (т.н. индел мутации) (слика 7.3).

Во споредба со замената на базни парови, индел мутациите се многу поретки во геномот и имаат ниска фреквенција во регионите за кодирање на гени. Замените на единични базни парови кои се присутни со фреквенции од 1% или повеќе кај популацијата се наречени единични нуклеотидни полиморфизми (SNP) и се присутни во човечкиот геном со околу еден SNP на секои неколку стотина до илјада базни парови, во зависност од генскиот регион.



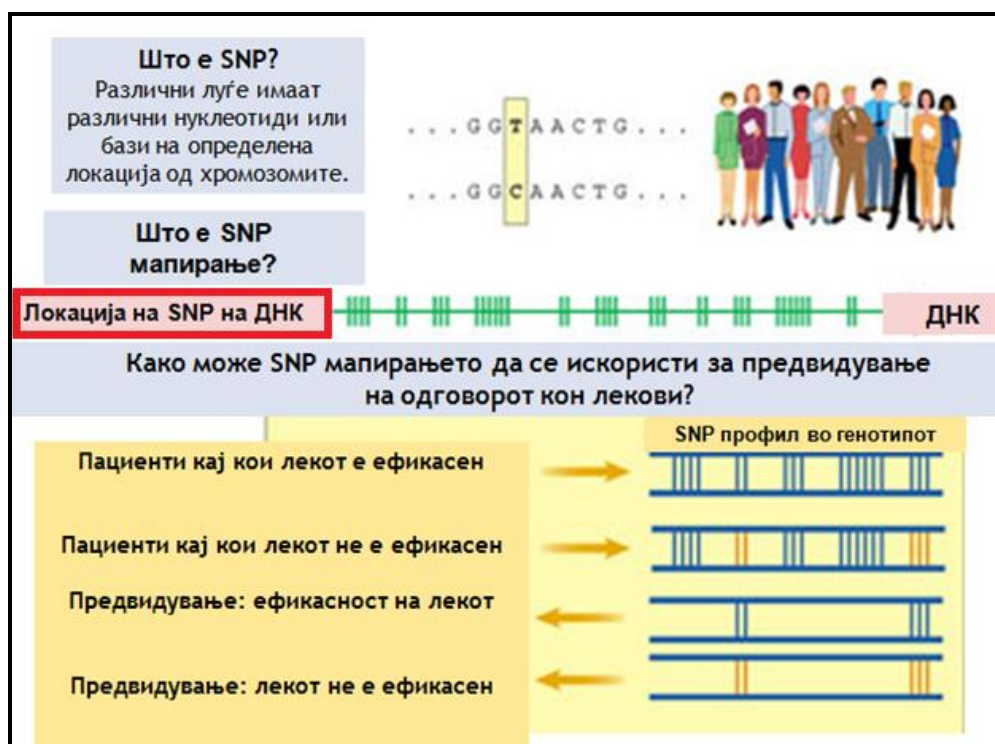
Слика 7.2. Шематски приказ на ген лоциран на долгото рамо на хромозом 15



Слика 7.3. Молекуларни механизми на генетскиот полиморфизам

SNP во регионите за кодирање на аминокиселини се нарекуваат cSNP. cSNP може да се класифицираат како несинонимни доколку промената на базниот пар резултира со супституција на аминокиселина во протеинот, или синонимни ако замената на базниот пар во нуклеотидот не ја менува кодираната аминокиселина. Замените на базни парови кои водат до стоп-кодони се нарекуваат бесмислени мутации. Покрај тоа, околу 10% од SNP може да имаат и повеќе од два можни алели (на пример, C може да биде заменет со A или G), така што исто полиморфно место може да резултира со аминокиселинска супституција во некои алели, но не и во други.

Полиморфизмите во некодирачките региони на гените може се јават на 3' и 5' регионите кои не се подложни на транслација, во промоторните региони, во интроните, или во големите региони меѓу гените, т.н. интергенски региони. Полиморфизмите во интроните во близина на егзон-интрон граници често се третираат како посебна категорија од другите интрон-полиморфизми, бидејќи тие можат да влијаат на спојувањето и на тој начин влијаат и врз функцијата. Некодирачките SNP во интроните или егзоните може да создадат алтернативни места на спојување во егзонот, при што изменетиот транскрипт може да има помалку или повеќе егзони, или пак пократки или подолги егзони. Воведувањето или бришењето на секвенци во егзоните може да предизвика т.н. „frameshift“ мутации во протеините кои се во процес на транслација и на тој начин промена и на протеинската структура или функцијата, или пак да резултира со предвремен стоп-кодон, што води до нестабилни или нефункционални протеини. Бидејќи 95% од геномот се интергенски, повеќето полиморфизми, најверојатно, нема директно да влијаат на кодираната транскрипција или протеините-продукти. Сепак, интергенските полиморфизми може да имаат и биолошки последици со влијание и врз терциерната структура на ДНК, интеракцијата со хроматинот и топоизомеразите или репликацијата на ДНК. Затоа не може да се претпостави дека сите интергенски полиморфизми се без фармакогенетско значење. Значењето на SNP-мапирањето (генотипизацијата) за дефинирање на одговорот кон лекови е илустрирано на слика 7.4.



Слика 7.4. Значење на SNP-мапирањето (генотипизацијата) за дефинирање на одговорот кон лекови

7.2. Расна разновидност

Полиморфизмите се разликуваат и според нивната фреквенција на застапеност во човековата популација. Помеѓу cSNP, синонимните SNP се присутни, во просек, со повисоки фреквенции од несинонимните SNP. Така, за повеќето гени нуклеотидните различности, што се одразува на бројот и фреквенцијата на SNP, се поголеми за синонимните отколку за несинонимните SNP.

Фреквенциите на полиморфизмите и нивната врска со расната разновидност на човековата популација се проучувани во студии на скенирање на целиот геном. Во овие студии, полиморфизмите се класифицирани како космополитски или популациско- (расно-) специфични. Космополитски се оние полиморфизми присутни кај сите расни групи, иако фреквенциите може и да се разликуваат меѓу различните расни групи. Космополитските полиморфизми обично се наоѓаат во повисоки алелни фреквенции во однос на популациско-специфичните полиморфизми. Присуството на расно-специфичните полиморфизми е конзистентно со географската изолација на дадената популација. Овие полиморфизми веројатно се јавуваат во изолирани популации и потоа достигнуваат определена фреквенција, бидејќи се напредни (со позитивна селекција) или неутрални. Со студии направени на подрачјето на САД е покажано на пример, дека Афроамериканците имаат најголем број на популациско-специфични полиморфизми во споредба со Американците со некое друго потекло. Тоа е така, бидејќи се верува дека Африканците се еволутивно најстарата популација и затоа кај нив се присутни и скоро здобиени популациско-специфични полиморфизми, но и постари кои водат потекло уште од пред нивната миграција од Африка.

7.3. Генетски полиморфизми – причини за различни болести

Генетските варијации што резултираат со конститутивно евидентни биолошки варијации понекогаш предизвикуваат и карактеристичен фенотип и болест. Цистичната фиброза, српестата анемија и Криглер-Најар синдромот се примери на наследни болести предизвикани од дефекти кои засегаат определен ген. Во случај на Криглер-Најар синдромот, истиот ген (UGT1A1) кој е цел на насочени, ретки инактивиращки мутации (поврзани со сериозна болест) исто така е цел и на полесни полиморфизми (поврзани со лесна хипербилирубинемија и променето излучување на лекови). Поради можноста од појава на заболувањето, присутна е еволутивна селекција против овој единичен генски полиморфизам. Полиморфизмите во некои други гени имаат силни ефекти на однесувањето кон лекови, но не и врз конститутивната состојба, па затоа се причина за изразувањето на моногенски фармакогенетски особини.

Огромно мнозинство од генетските полиморфизми имаат само скромно влијание врз засегнатите гени, но затоа пак се дел од големиот спектар на мултигенски фактори кои влијаат врз одговорот на лековите или влијаат врз гени, чии производи играат второстепена улога во однесувањето кон лекови поврзани со негенетски ефекти. На пример, индукцијата на метаболизмот од страна на фенобарбитон може да биде толку голем „надворешен“ фактор што полиморфизмите во засегнатите фактори на транскрипција и лек-метаболизирачките гени во споредба со него имаат скромни и незначителни ефекти.

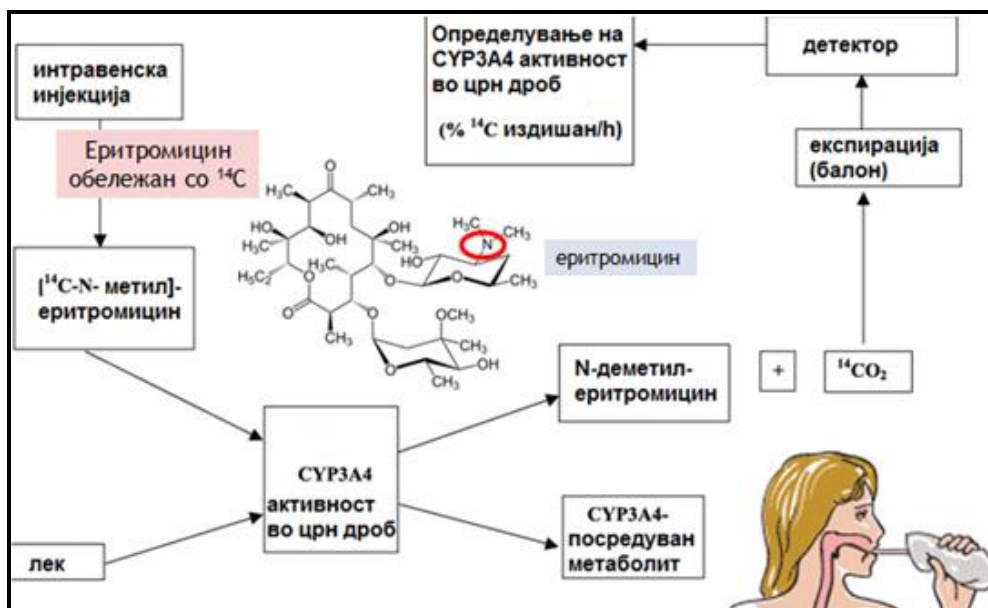
7.4. Фармакогенетски параметри (особини)

Фармакогенетски параметар (особина) е секоја мерлива или забележлива особина кај индивидуата поврзана со лековите. Така, ензимската активност, концентрацијата на лекот или метаболитот во плазмата или урината, крвниот притисок или намалувањето на липидите предизвикано од присуството на лек и моделите на генската експресија индуцирана од лекови се примери на фармакогенетски параметри.

Директното определување на параметарот (на пример, ензимската активност) има предност во тоа што нето ефектот од придонесите се рефлектира во фенотипските карактеристики на сите гени кои влијаат врз особината. Меѓутоа, недостатокот е во тоа што исто така зависи и од негенетски фактори (на пример, интеракции со храна, лекови, дневни или хормонални флукутации) и поради тоа, определувањето на фенотипот само преку фармакогенетските параметри може да биде „нестабилно“.

На пример, во случајот на изоформата CYP2D6, ако на пациент му е дадена перорална доза на декстрометорфан и се определува односот на родителскиот лек наспроти метаболитот во урината, фенотипот ќе биде одраз на генотипот за CYP2D6. Меѓутоа, ако декстрометорфан се даде заедно со хинидин, потентен инхибитор на CYP2D6, фенотипот може да одговара на генотипот на слаби метаболизатори, дури и ако субјектот носи „див“-тип на CYP2D6 алели. Во овој случај, администрацијата на хинидин резултира со лек-индуцирана хапло-инсуфициенција и фенотипот на CYP2D6 слаби метаболизатори нема да одговара на фенотипот на субјектот при отсуството на хинидин.

Ако определувањето на метаболизирачкиот фенотип, на пример со тест за определување на еритромицин при експирација (за CYP3A) (слика 7.5), не е стабилно кај испитуваниот субјект, ова е индикација дека фенотипот е под влијание и на негенетски фактори. Тестот со еритромицин при експирација е метод кој се користи за определување на метаболизмот (оксидација и елиминација од системот) од страна на дел од ензимите цитохром P450. Еритромицин се обележува со јаглерод-14 и се дава *i.v.*; после 20 минути пациентот дува во балон и CO₂ кој е врзан со јаглерод-14 се издишува и ја покажува активноста на CYP3A4 изоензимот врз еритромициноот. Затоа, според оваа активност може да се предвиди како и други лекови се метаболизираат преку CYP3A4 изоензимот. Тестот овозможува да се утврди или да се предвиди исходот од третман со даден лек кај поединци, дали еден пациент ќе развие сериозни или фатални несакани ефекти од одреден лек. Со овој и други дополнителни тестови може да утврдат однапред резултатите од дадена терапија или да се проучуваат ефектите од нови лекови во развој. Бидејќи повеќето фармакогенетски карактеристики се определуваат мултигенски наместо моногенски, треба да се вложи значителен напор за да се идентификува комплетот од важни гени и нивните полиморфизми кои влијаат на варијабилноста во одговорот кон лекови.



Слика 7.5. Тест со еритромицин при експирација (за CYP3A) за определување на метаболизирачкиот фенотип

Сепак, можеби најважниот метод за определување на фенотип на метаболизирање е генотипизацијата. Повеќето методи на генотипизација користат геномска ДНК, што е ДНК екстрахирана од која било соматска, диплоидна клетка, обично белите крвни клетки или букалните клетки (во зависност од нивната достапност). ДНК е исклучително стабилна ако соодветно се екстрахира и чува и за разлика од многу лабораториски тестови, генотипизацијата треба да се изврши само еднаш, бидејќи ДНК секвенцата генерално е непроменлива во текот на целиот живот на поединецот. Иако е направен огромен напредок во молекуларните биолошки техники за утврдување на генотипот, сепак само неколку вообичаено се користат кај пациенти, најчесто техниките базирани на полимераза верижната реакција (PCR). Тестовите за генотипизација се директно насочени кон специфично познато полиморфно место со користење на различни стратегии кои генерално зависат во определено ниво од специфично анилирање (прилепување) на најмалку еден олигонуклеотид (прајмер) во регионот на ДНК ланецот или преклопување со полиморфното место. Бидејќи генетската варијабилност е толку честа појава (со полиморфни места на секои неколку стотина нуклеотиди), „критични“ или неидентификувани полиморфизми може да интерферираат со олигонуклеотидното анилирање резултирајќи со лажно позитивни или лажно негативни генотипови. Целосната интеграција на генотипизацијата во терапијата со лекови бара високи стандарди на технологијата за генотипизација и веројатно употреба на повеќе од еден прајмер за секое полиморфно место за потврдување на резултатите.

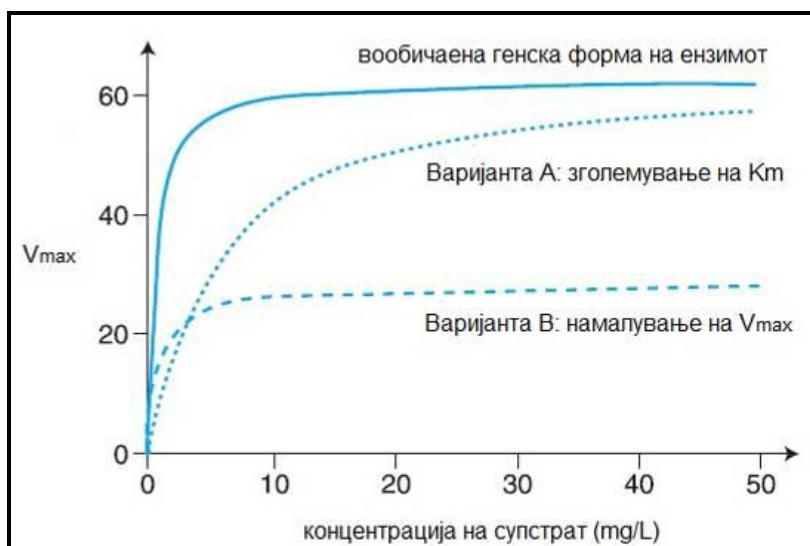
7.5. Функционални испитувања на полиморфизмот

За повеќето полиморфизми, нема на располагање функционални информации. Затоа, за испитување на полиморфизмите, кои најверојатно се предизвикувачи на определена состојба, важно е да се предвиди дали полиморфизмот може да резултира со промена на протеинската функција, стабилноста, или пак субцелуларната локализација на протеинот-продукт. Испитувањата сугерираат дека супституцијата на аминокиселини во секвенцата која кодира протеини е поврзана со појава на болести кај човекот. Овие податоци се дополнети од страна на истражување на генетските варијации кај мембранските транспортери кои се важни за одговорот кон лекови. Природата на хемиските особини на аминокиселинската која се заменува ги одредува функционалните ефекти на варијантните полиморфизми на една аминокиселина. Повеќето радикални промени кај аминокиселините се со поголема веројатност да бидат поврзани со болест. На пример, замената на наелектризирана аминокиселина (Arg) со неполярна, ненаелектризирана аминокиселина (Cys) е веројатно да влијае на определена функција отколку замената на аминокиселини кои се повеќе слични хемиски (на пример, Arg со Lys).

Меѓу првите откриени фармакогенетски примери е недостатокот на глюкоза-6-фосфат дехидрогеназа (G6PD). Ензимот G6PD е нормално присутен во еритроцитите и помага во регулацијата на нивото на антиоксидантот глутатион. Недостатокот на овој ензим е X-поврзана моногенска особина што резултира со тешка хемолитичка анемија кај засегнатите лица после примање на определени агенси (Фава-грав (*Vicia faba*, Fabaceae) поради присуството на алкалоидот вицин (фавизам)) или разни лекови, вклучувајќи и многу антималярични агенси. Антималяриците, како примаквин, ја зголемуваат фрагилноста на еритроцитите кај лицата со недостаток на G6PD, што доведува до силно изразена хемолитичка анемија. Интересно е дека сериозноста на синдромот на недостаток варира меѓу индивидуите и е поврзана со варијантите во аминокиселинската секвенца на G6PD.

За многу протеини, вклучувајќи ензими, транспортери и рецептори, механизмите со кои супституцијата на аминокиселини ја менува функцијата се опишани со кинетички студии. Сликата 7.6 покажува симулирани криви кои ја отсликуваат брзината на метаболизирање на супстрат од страна на две несинонимни

мутирани варијанти на ензим и најчестата генетска форма на ензимот. Кинетиката на метаболизирање на супстратот од страна на една варијанта на ензимот, варијанта А, се карактеризира со зголемување на K_m . Ваквиот ефект може да се случи ако аминокиселинската супституција резултира со промена на местото на врзување на ензимот што доведува до намалување на афинитетот кон супстратот. Ензимската варијанта, исто така, може да ја промени и максималната брзина на метаболизмот (V_{max}) на супстратот, како што е примерот со варијанта В. Механизмите со намалување на V_{max} обично се поврзани со намалено ниво на експресија на ензимот, што може да се случи поради намалена стабилност на протеинот или промени во транспортот на протеини или пак рециклирањето.



Слика 7.6. Симулирани концентрациски-зависни криви кои ја покажуваат брзината на метаболизмот на хипотетички супстрат од најчестата генска форма на ензим и две негови несинонимни варијанти

7.6. Фармакогенетски ефекти врз фармакокинетиката и фармакодинамиката на лекови

Генските варијации се поврзани со различни механизми кои може да бидат важни за терапијата со лекови. Ефектите од генските варијации може да бидат врз гени кои кодираат: метаболизирачки ензими, транспортери (носачи) на лекови, рецептори и/или јонски канали. Овие ефекти може да се опишат како фармакокинетички (влијаат врз концентрацијата на лекот) и фармакодинамички (влијаат врз дејството на лекот). Варијабилноста во гените кои кодираат детерминанти на фармакокинетиката на лекот, особено ензими и транспортери, влијае на концентрацијата на лекот во плазмата и затоа е главна детерминанта на терапевтските и/или негативните реакции на лековите. Повеќе ензими и транспортери можат да бидат вклучени во фармакокинетиката на еден лек (табела 7.2). Неколку полиморфизми во лек-метаболизирачките ензими се познати како моногенски фенотипски варијации и затоа може добро да се опишуваат со користење на нивните фенотипски ознаки (на пример, бавно наспроти брзо ацетирање, интензивни (силни) наспроти слаби метаболизатори (на пример на дебрисоквин или спартеин)), отколку со нивните генотипски ознаки кои го опишуваат генот што е цел на полиморфизми (NAT2 и CYP2D6 полиморфизми, соодветно за примерот даден претходно).

Многу важен дел од испитувањата во фармакогенетиката се насочени кон проучување на генетските полиморфизми кои ги засегаат гените кои кодираат CYP 450

ензими, и тоа: **CYP2C9**, **CYP2C19**, **CYP2D6** и **CYP3A4**. Подолу се дадени неколку карактеристични примери.

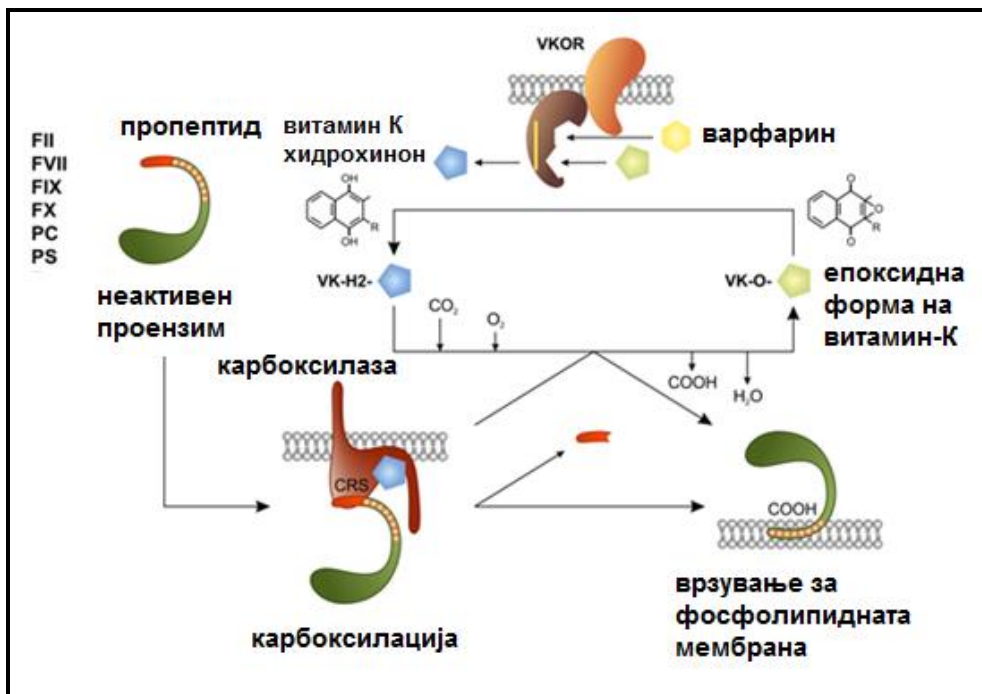
Во моментот, многу голем број од лековите (се проценува околу 15% до 25% од сите лекови што се во употреба) се покажало дека се супстрати за CYP2D6 (табела 7.2). На пример, последиците од дефицитарен CYP2D6 фенотип вклучуваат зголемен ризик од токсичност на антидепресиви или антипсихотици (метаболизирани од страна на овој ензим) и недостаток на аналгетски ефект на кодеин (метаболизиран од страна на истиот ензим). Спротивно на ова, ултра-брзиот фенотип е поврзан со екстремно брзо излучување, а со тоа и неефикасност на антидепресивите. За CYP2D6 е познато дека ги метаболизира двата експериментални лека (спартеин и дебрисоквин), секој од кои се поврзува со засилени реакции кај 5% до 10% од третираните лица. Засилените реакции кон овие лекови се наследна особина.

Во текот на последните неколку децении има значителен напредок во лекувањето на покачениот крвен притисок, но хипертензијата сè уште продолжува да биде голем здравствен проблем. И покрај големиот број на антихипертензивни лекови на располагање за терапија, кај околу половина до две третини од третираните хипертензивни пациенти контролата на крвниот притисок не е оптимална, додека негативните ефекти кои се јавуваат во околу 80% од случаите се причина за дисконтинуитет на антихипертензивната терапија. Еден од лековите кои често се користат за намалување на крвниот притисок кај пациентите со хипертензија е метопролол. Тој е β 1-блокатор кој се метаболизира во црниот дроб, во најголем процент под контрола на полиморфниот ензим CYP2D6, кој е една од главните детерминанти на интериндивидуалните разлики во плазмениот клиренс на метопролол. Откриено е дека CM фенотипот е изложен на 3- до 10 пати повисоки концентрации во плазмата после администрација на метопролол отколку кај екстензивните метаболизери (EM), додека кај ултрабрзите метаболизери (UM) се постигнуваат концентрации на метопролол кои се за половина пониски од оние забележани кај EM, што покажува силна врска ген-концентрација. Во врска со овој сооднос, метопролол покажува поинтезивно и попродолжително β -блокирање кај CM отколку кај EM. Затоа, додека кај CM ќе биде потребно дозирање само еднаш на ден при терапија со метопролол во доза од 100 mg за ефективна контрола на крвниот притисок, кај EM би било потребно дозирање два пати дневно на метопролол 100 mg.

Неколку инхибитори на протонската пумпа, вклучувајќи ги омепразол и лансопризол, се инактивираат преку CYP2C19 изоформата на цитохром P450. Така, пациенти со недостаток (генски полиморфизам во гените што ја кодираат оваа изоформа) ќе бидат изложени на повисоки концентрации на активниот родителски-лек, т.е. ќе имаат поголем фармакодинамски ефект (повисока гастрична pH) и повисока веројатност за лекување на гастричниот улцер од индивидуите со нормален генотип.

Антикоагулансот варфарин се метаболизира преку CYP2C9. Инактивирачките полиморфизми во CYP2C9 се чести, кај 2% до 10% од популацијата хомозиготни за варијантите со ниска активност, а се поврзани со послабото излучување на варфарин, поголем ризик од компликации со крварење, како и неопходност од пониски дози на лекот. Варфарин е орален антикоагуланс кој најчесто се користи во светски рамки. Администрацијата кај некои групи на пациенти е доживотна (на пример, оние со имплантирани вештачки срцеви валвули). Варфарин интерферира со циклусот на витамин K. Циклусот на витаминот K е клучен процес за посттранслациона модификација на некои протеини (поголем дел од нив се вклучени во коагулацијата на крвта). Овој циклус овозможува генерирање на гама-карбокси-глутаматни резидуи во овие протеини, кои се неопходни за врзување со мембраните. Такви протеини се фактор II (протромбин), фактор VII, фактор IX, фактор X, протеин C и протеин S. Во отсуство на правилна гама-карбоксилација врзувањето со мембраните, а како последица и коагулацијата на крвта, се сериозно нарушени. Еден од клучните ензими

од циклусот на витамин К е VKOR (витамин К-епоксид редуктаза). Главната функција на VKOR е намалувањето на концентрацијата на епоксидната форма на витамин-К. Ова е процес од два чекори, каде што најнапред се формира хинон, а потоа и хидрохинон. Варфаринот интерферира и со двата чекора, така што се врзува на истото место каде што се врзува и витамин К, а ова место не може да ги прими и двете соединенија во исто време (слика 7.7).



Слика 7.7. Фармакогенетски аспекти на циклусот на витамин К и варфарин

Фармакогенетиката на антикоагулантни лекови од типот на варфарин (важи и за аценокумарол) е важна од гледна точка на индивидуалното и јавното здравје. Во случајот на варфарин (кој е смеса на оптички изомери), *S* изомерот е одговорен за поголемиот дел на антикоагулантниот ефект (додека кај аценокумарол одговорен е *R* изомерот). Клучен ензим за метаболизмот на *S* изомерот на варфарин е CYP2C9. Тој има две варијанти со намалена ензимска активност (CYP2C9*2 и *3 алели). Генот VKORC1 (одговорен за витамин К) исто така е високо полиморфен. Генскиот статус на CYP2C9 ќе влијае на достапноста на активниот лек (варфарин), а генотипот на VKORC1 ќе влијае на ефикасноста на циклусот на витамин К.

Не само полиморфизмите на CYP ензимите се поврзани со детерминирање на фармакогенетските особини, туку овој факт се однесува и на редица други лек-метаболизирачки ензими (табела 7.2). На пример, варијанта на ензимот UGT1A1, UGT1A1*28, кој има дополнителна секвенца (TA) во споредба со вообичаената форма на генот, е поврзана со намалена брзина на транскрипцијата на UGT1A1 и пониска глюкуронидациска активност на ензимот. Оваа намалена активност се поврзува со повисоки нивоа на активниот метаболит на антиканцерниот хемотерапевтски агенс иринотекан. Метаболитот на овој лек, наречен SN38, кој се елиминира со глюкуронидација, е поврзан со ризикот од токсичност кој е изразен кај индивидуи со генетски пониска активност на UGT1A1.

Табела 7.2. Примери за генетски полиморфизми коишто влијаат на одговорот кон лекови

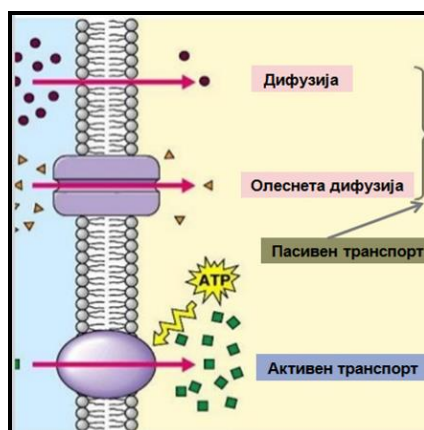
Генски продукт (Ген)	Лекови	Одговор кон лек
Лек-метаболизирачки ензими		
CYP2C9	Толбутамид, варфарин, фенитоин, НСАИЛ	Антикоагулантниот ефект на варфарин
CYP2C19	Мефентоин, омепразол, хексобарбитал, пропранолол, фенитоин	Пептичен улцер
CYP2D6	β -блокатори, антидепресанти, антипсихотици, кодеин, фенацетин, пропафенон, спартеин	Тардивна дискинезија од антипсихотици, ефикасност на кодеин, дози на имипрамин, ефекти на β -блокатори
N-ацетилтрансфераза (NAT2)	Изонијазид, хидралазин, сулфонамиди, прокаинамид, дапсон, кофеин	Хиперсензитивност на сулфонамиди, хидралазин-индуциран лупус, невротоксичност на изонијазид
Тиопурин метилтрансфераза (TPMT)	Меркаптопурин, тиогванин, азатиоприн	Токсичност и ефикасност на тиопурин, ризик од појава на метастази
Катехол O-метилтрансфераза (COMT)	Леводопа	Изменет ефект на лекот
Рецептори/целни места		
Ангиотензин-конвертирачки ензим (ACE)	ACE инхибитори (на пример, еналаприл)	Рено-протективни ефекти, хипотензија, кашлица
β_2-адренергични рецептори	β_2 -антагонисти (на пример, албутерол, тербуталин)	Бронходилатација, кардиоваскуларни ефекти
β_1-адренергични рецептори	β_1 -антагонисти	Одговор кон β_1 -антагонистите
5-липооксигеназа	Антагонисти на леукотриенски рецептори	Астма
Естрогенски рецептор α	Супституциона терапија на естрогени хормони	HDL, холестерол
Транспортери на серотонин (5-HTT)	Антидепресанти (на пример, кломипрамин, флуоксетин, пароксетин)	Ефекти на клозапин, 5-HT невротрансмисија, антидепресивен одговор
Серотонински рецептор (5-HT_{2A})	Антипсихотици	Антипсихотичен одговор на клозапин, тардивна дискинезија
HMG-CoA редуктаза	Правастатин	Редукција на серумски холестерол
Модифицирачи на болест		
Аполипопротеин E	Статини (на пример, симвастатин, такрин)	Пониско ниво на липиди во крвта, клиничко подобрување на симптомите на Алцхајмер
Човечки леукоцитен антиген	Абакавир	Реакции на хиперсензитивност
Јонски канали (HERG, Mink)	Еритромицин, цисаприд, кларитромицин, хинидин	Зголемен QT интервал
Протромбин, фактор V	Орални контрацептиви	Ризик од длабоко-венски тромбози
Витамин D рецептор	Естроген	Густина и минерализација на коските

8. МЕМБРАНСКИ ТРАНСПОРТЕРИ (НОСАЧИ) И ОДГОВОР КОН ЛЕКОВИ

Транспортерите (носачи) се мембрански протеини кои се присутни кај сите организми. Овие протеини го контролираат влезот на есенцијалните хранливи материи и јони и исфрлањето (излезот) на клеточните метаболни отпадни продукти, токсини со потекло од животната средина и други ксенобиотици преку биолошките мембрани. Во согласност со нивната круцијална улога во клеточната хомеостазата, приближно 2000 гени во човечкиот геном кодираат транспортери или транспорт-поврзани протеини (*можни се генетски полиморфизми!*). Генетските варијации како што се SNP на гените кои кодираат транспортни протеини може да предизвикаат разлики во влезот/излезот на лековите од клетките. Примери за нивното значење и важност има многу:

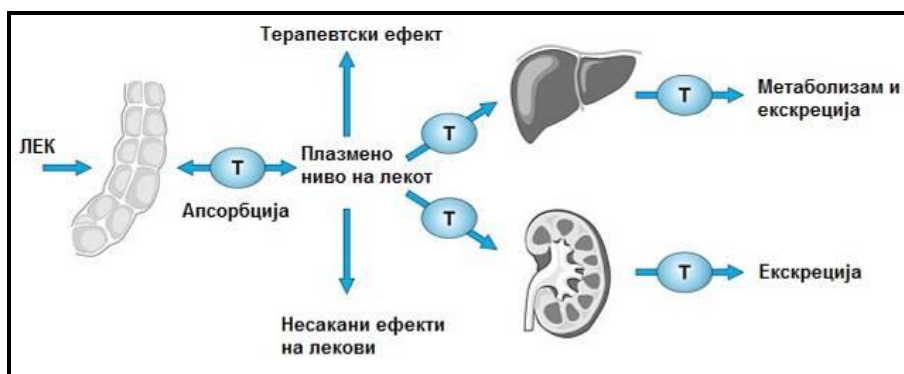
- Во однос на антиканцерната хемотерапија, туморските клетки кои ги експресираат овие транспортни протеини може да имаат или зголемена чувствителност или да покажуваат резистентност кон дејството на различните антиканцерни лекови.
- Транспортерите, кои служат како излезни пумпи на клеточната мембрана може да ги отстранат лековите од клетката пред тие да може да дејствуваат.
- Транспортните протеини кои се одговорни за физиолошкиот внес на јони и хранливи компоненти (како што е глюкозата), може да промовираат раст на туморските клетки, доколку се преекспресирани, или да доведат до зголемена подложност на лековите доколку транспортерот го внесува лекот во истата клетка.
- Покрај тоа, генетските варијанти на транспортните протеини може да предизвикаат или да придонесат и за зголемување на бројот на болести, како што се цистичната фиброза, дегенерација на ретината, анемијата или хиперхолестеролемијата.

Функциите на мембранските транспортери може да бидат олеснети (ворамнотежени, не бараат енергија) или активни (потребна е енергија) (слика 8.1). Мембранските транспортери може да се поделат на транспортери за влез или излез на супстанции, во зависност од насоката на транспортот.



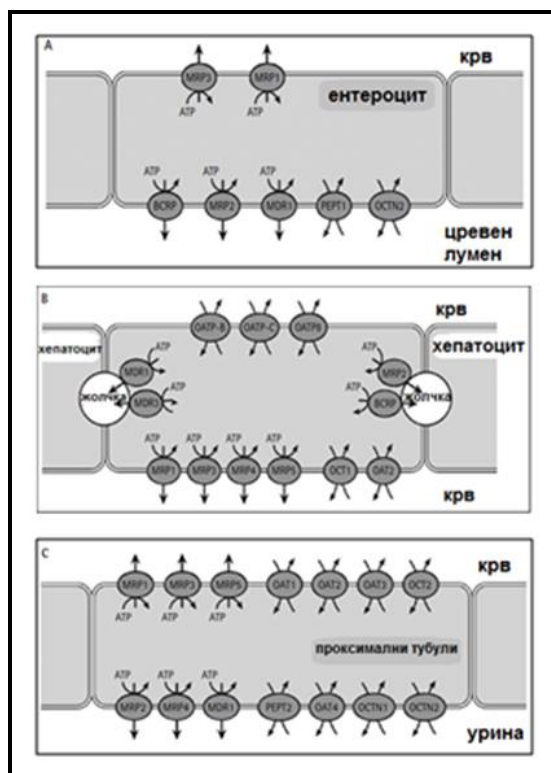
Слика 8.1. Механизми на мембрански транспорт

Лек-транспортирачките протеини делуваат и на фармакокинетичките и на фармакодинамичките патишта, вклучувајќи ги патиштата вклучени и во терапевтските и во несаканите ефекти од лековите (слика 8.2).



Слика 8.2. Улога на мембранските транспортери (Т) во фармакокинетските патишта и терапевтските и/или несаканите ефекти на лекот

Во однос на транспортот на лекови, генерално фокусот е на транспортерите од двете главни суперфамии, **ABC-транспортери (ATP-binding cassette)** или **ATP-поврзани транспортери** и **SLC транспортери (solute-carrier)** (за растворени соединенија). Локализацијата на транспортерите може да биде во различни клетки: хепатоцити, ентероцити или бубрежни проксимални тубули, крвно-мозочна бариера, итн (слика 8.3). Поголемиот дел од ABC-транспортерите ги транспортираат соединенијата од цитоплазмата кон надворешноста на клетката или кон други органели (како што се ендоплазматичниот ретикулум, митохондриите или пероксизомите).



Слика 8.3. Локализација на транспортерите во различни типови на клетки: А) ентероцити во тенките црева, В) хепатоцити и С) бубрежни проксимални тубули

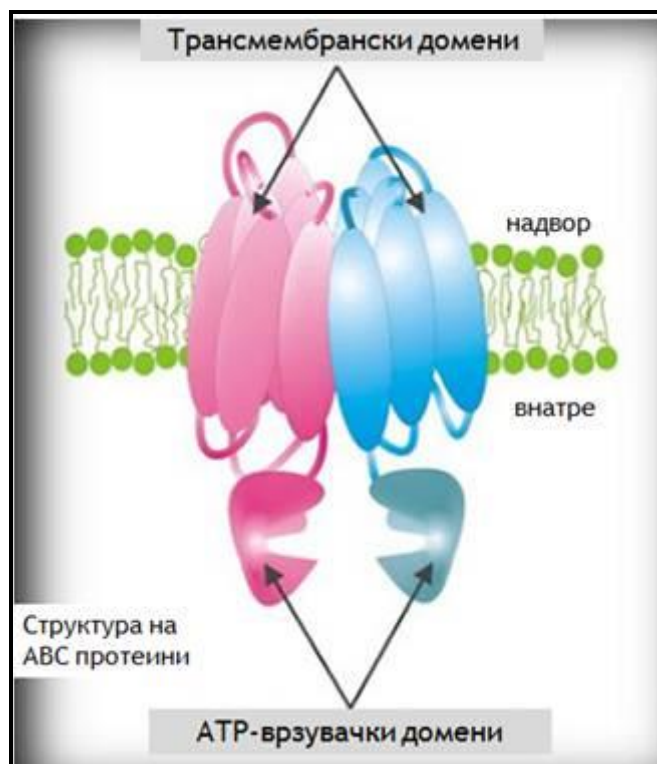
Прикажани се повеќе транспортери со можна заштитна или фармакогенетска важност. Како на пример: OCTN1 и OCTN2 (транспортери за органски катјони -1 и 2 (SLC22A4, SLC22A5); OATP-B: транспортен полипептид-B за органски анијони (SLCO2B1); OATP-C (SLCO1B1), OATP8 (SLCO1B3), OCT1 (SLC22A1), OAT2 (SLC22A7), MRP и др.

8.1. ABC-мембрански транспортери и одговор кон лекови

Повеќето ABC-протеини се првенствено активни носачи кои за функционирање се потпираат на хидролизата на АТФ со активно испумпување на супстратите низ мембраните. Постојат 49 гени кои кодираат ABC протеини и можат да бидат групирани во седум поткласи или семејства (ABCA до ABCG). Меѓу најпознатите транспортери од ABC суперсемејството се:

- **Р-гликопротеин** (P-gp, кодиран од ABCB1, исто така се нарекува уште и MDR1)
- **ABCG2** (breast cancer resistance protein, протеин на резистенција кај канцер на дојка),
- **ABCC** семејството (или протеини поврзани со мултимедикаментозната резистенција (MRP)) и
- Трансмембранскиот регулатор на цистична фиброза (CFTR, кодиран од ABCC7).

ABC транспортерите се карактеризираат според хомологијата на нивниот АТФ-врзувачки регион. Сите семејства, освен ABCG2, содржат два АТФ-врзувачки региони и два трансмембрански домени. Трансмембранските домени содржат повеќе алфа-хеликси, кои минуваат низ липидниот двослој на мембраната. АТФ-врзувачките региони се наоѓаат од цитоплазматската страна на мембраната (слика 8.4).



Слика 8.4. Општа структура на ABC-транспортери

Точниот механизам со кој АТФ-зависните транспортери функционираат не е точно разјаснет. Предложено е дека се случуваат АТФ-зависни конформациски промени во протеинот кои предизвикуваат испумпување на супстратот преку мембраната. Оваа хипотеза е поддржана со x-кристалографски студии, кои покажуваат дека протеините и за внес и за излез на супстрати, осцилираат помеѓу две

конформации: првата – кога местото за врзување на супстратот е отворено кон цитоплазмата и второто – кога местото за врзување е отворено на спротивната страна од мембраната. Се мисли дека врзувањето на ATP и хидролизата имаат посебни улоги во циклусот. Механизмот на транспортот преку овој тип на протеини може да се објасни низ пет чекори (шематски прикажани на слика 8.5):

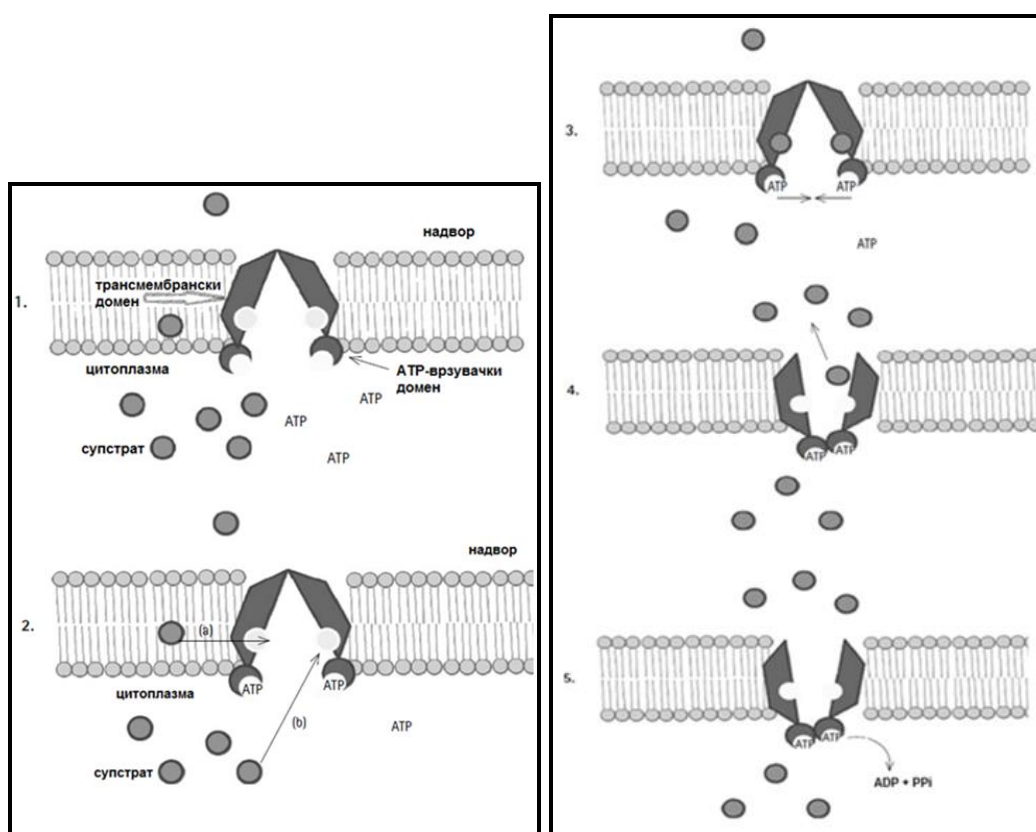
Чекор 1: Двата трансмембрански домени кои го сочинуваат функционалниот протеин се врзани за ATP-врзувачките домени (или уште наречени и нуклеотид-врзувачки домени) кои се раздвоени помеѓу себе.

Чекор 2: ATP и супстратот се врзуваат за домените. Силно липофилните супстрати може да дифундираат преку плазмените мембрани (a). Или пак, може да дифундираат од цитоплазмата кон врзувачкото место (b).

Чекор 3: Нуклеотидните-врзувачки региони кои содржат ATP се подложуваат на промена на конформацијата со што се приближуваат поблиску еден до друг.

Чекор 4: Промената на конформацијата на овие региони предизвикува промена на местото за врзување на супстратот со што тоа се отвора надвор од клетката и дозволува излез на супстратот.

Чекор 5: ATP се хидролизира до ADP и пиродифосфат (PPi). Транспортерот потоа се враќа во првобитната состојба со ослободено место за врзување на нов супстрат.

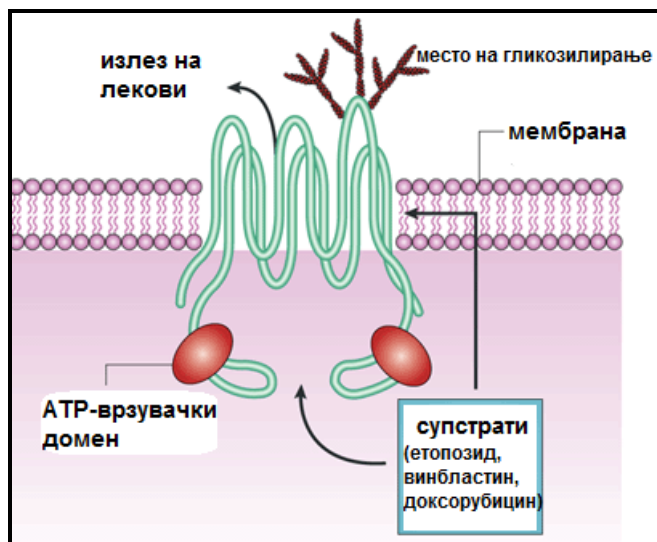


Слика 8.5. Шематски приказ на механизмот на дејство на ABC-транспортерите

8.1.1. ABCB1 транспортери: P-гликопротеин

Генот ABCB1 кодира гликозилиран мембрански протеин првично откриен во клетките кои развиваат резистентност кон антиканцерни хемотерапевтски агенси. Овој

протеин се нарекува Р-гликопротеин (Р-гр) или протеин на мултимедикаментозна резистенција -1 (MDR1). Второто име се должи на фактот дека неговата експресија во клетките може да резултира со резистентност кон повеќе класи на лекови со различни хемиски структури и механизми на дејство. Различни типови на канцерни клетки имаат тенденција да покажуваат ниски почетни нивоа на Р-гр со тенденција на зголемување на експресијата после хемотерапија и релапс на болеста. Од многуте откриени и проучувани транспортни протеини, Р-гр е најдобро опишан во смисла на неговата структура, локација и функција (слика 8.6).



Слика 8.6. Локализација, структура и функција на Р-гликопротеин

Транспортерот Р-гр функционира како димер составен од 1280 полипептидни остатоци, формирајќи пори преку клеточната мембрана. Многу лекови се транспортираат низ мембраните од страна на Р-гр. Овде се вклучуваат:

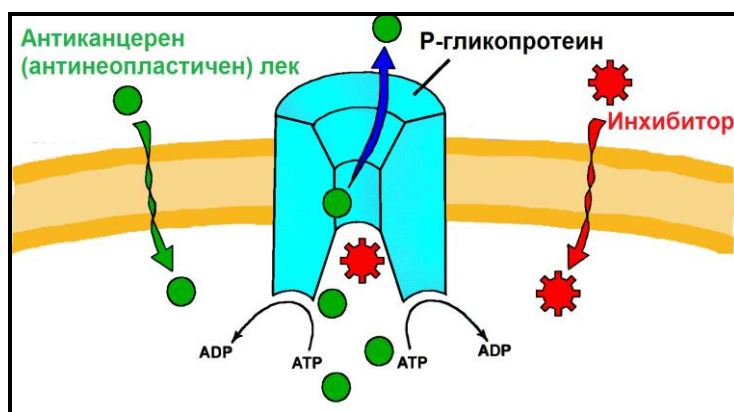
- цитотоксични хемотерапевтски агенси,
- протеазни инхибитори,
- имуносупресивни лекови,
- блокатори на калциумови канали,
- бета блокатори,
- статини,
- стероиди,
- антихистаминици,
- антиконвулзивни лекови,
- антидепресиви и др.

Важноста на Р-гр за фармакотерапијата доведува до голем интерес за неговите фармакогенетски карактеристики, бидејќи експресијата на Р-гр во клетките може да резултира со резистенција кон ефектите на многу различни лекови, а генетските варијации на протеинот пак може да резултираат со различен одговор на фармакотерапијата.

Супстратите за Р-гр најчесто се хидрофобни лекови со полиароматична структура и неутрален или позитивен полнеж. Некои лекови (на пример, циклоспорин) дејствуваат и како супстрати и како инхибитори на Р-гр. Други лекови дејствуваат само како супстрати или само како инхибитори. Познати инхибитори на Р-гр се:

- Циклоспорин А,
- Кетоконазол,
- Нелфинавир,
- Хинидин,
- Ритонавир,
- Саквинавир,
- Такролимус,
- Верапамил,
- Резерпин и др.

Можноста за инхибирање (блокирање) на Р-гр е важна стратегија за спречување на излегувањето на лекот (супстрат) од клетката која како резултат може да доведе до продолжен терапевтски ефект (слика 8.7). Ова е многу важна можност за модулација на мултимедикаментозната резистенција кај канцерните клетки.



Слика 8.7. Механизам на инхибирање (блокирање) на Р-гр

Покрај тоа што се експресира во канцерните клетки, Р-гликопротеинот се експресира и во повеќето нормални ткива со екскреторна или заштитна функција вклучувајќи ги цревата, бубрезите, црниот дроб, крвно-мозочната бариера, 'рбетниот мозок, тестисите и плацентата. Р-гр има важна улога во формирањето на заштитна бариера против апсорпцијата на ксенобиотици во овие ткива.

Широката супстратна специфичност на Р-гр е слична со онаа на цитохром Р450 3А4 (CYP3A4) за кој е познато дека метаболизира различни групи на лекови. Оваа широка специфичност, во комбинација со локализацијата во ткивата и функцијата на овие два вида протеини, доведува до хипотезата дека тие функционираат заеднички, заштитувајќи го организмот од апсорпцијата на штетни соединенија на тој начин што дејствуваат синергетски во тенкото црево. Но, ако Р-гр е преекспресираан, а ензимот CYP3A4 е инхибиран (вклучени во метаболизмот и транспортот на еден исти лек) постои можност од зголемени несакани и токсични ефекти на определени лекови.

Постои значајна интериндивидуална варијабилност во експресијата на P-гр (разлики од два до осум пати) (испитувано кај здрави доброволци преку цревна биопсија), што укажува на можноста за променлива биорасположивост на неговите супстрати. Откриени се бројни SNP на хуманиот ген MDR1 чијашто фреквенција се разликува во зависност од расната/етничката припадност на популацијата. Два SNP се од особен интерес и тоа мутација во егзон 26 на позиција во 3435 (C > T) и мутација во егзон 21 (2677G > T/A). Промената во нуклеотидната секвенца од C во T на позиција 3435 не резултира со промена на аминокиселина, но е т.н. „тивка“ мутација во позицијата на кодонот и води до променета функција. Намалувањето на нивото на P-гр при оваа мутација е во корелација со разлики во фармакокинетските параметри за различни супстрати (како што е дигоксин).

Варијациите во фреквенцијата на SNP кај P-гр се проучувани кај различни расни/етнички популации. Откриено е дека инциденцата на C/T и C/C генотипот на позиција 3435 е многу повисока кај африканската отколку кај белата или азиската популација. На пример, во една студија, 83% од испитаниците од Гана и 61% од Американците со африканско потекло се хомозиготни за алелите C, додека само 26% од белците и 34% од јапонската популација го делат овој ген. Поединци кои се хомозиготни за T алелите имаат значително пониска цревни нивоа на P-гр од оние кои се хомозиготни за C алелот што може да ја зголеми биорасположливоста на P-гр супстратите. Овој факт е поддржан и од испитувања кои покажуваат дека максималната плазмена концентрација на циклоспоринот (супстрат на P-гр) е значително пониска кај Афроамериканците отколку кај испитаниците припадници на белата раса. Се претпоставува дека повисоката фреквенција на генотипот на C/C во африканските популации во споредба со Јапонците или белците може да резултира со селективна предност на овој генотип против гастроинтестинални инфекции ендемични за тропските региони, но пак од друга страна, високата фреквенција на C3435 алелот во африканските популации може да ја објасни високата преваленца на поагресивни тумори (како канцер на дојка) и високата стапка на појава на резистентност кон хемотерапија.

Освен расата и етничката припадност, полот на пациентот, исто така може значително да влијае на експресијата на P-гр. На пример, хепаталните нивоа на P-гр се 2 до 2,5 пати пониски кај жените отколку мажите. Во случај на антиканцерните лекови како што се винка-алкалоидите, етопозид, доксорубицин и доцетаксел, ова значи зголемен ризик за миелосупресија и гастроинтестинална токсичност како и продолжена експозиција на лекот кај жените. Кај жените, може да има зголемен одговор кон лекот, како и истовремено зголемена токсичност.

Карактеристичен антиканцерен лек со интересна фармакогенетската основа во чиј транспорт е вклучен P-гр но и повеќе други претставници од ABC-транспортите, е иринотекан (полусинтетски дериват на природниот алкалоид камптотексин). Иринотекан е пролек, се трансформира во фаза I во активен метаболит (7-етил-10-хидроксикамптотекан, SN-38) со помош на CE ензими. SN-38 преминува во фаза II од метаболизмот како глукуронид (конјугиран со UGT ензими). Резултатот е конјугат кој е похидрофилен од родителската молекула и се елиминира преку жолчката или урината со помош на транспортните протеини: ABCB1, ABCC1, ABCC2, ABCG2 и SLC01B1 (OATP1B1). Стандардните режими на дозирање на иринотекан се потпираат на пресметување на површината на телото на пациентот што е во корелација со крвниот волумен. Сепак, постои огромна интериндивидуална варијабилност во одговорот кон иринотекан, кај некои пациенти со тешка животозагрозувачка дијареа и неутропенија. Точното дозирање е од клучно значење, бидејќи намалените плазмени нивоа на лекот не обезбедуваат ефикасна терапија, додека пак зголемените нивоа доведуваат до токсичност. Врз основа на забележаната индивидуална токсичност се препорачува модификација на режимот на дозирање. Идентификувани се полиморфизми на

UGT1A1 кои се одговорни за намалување на степенот на глукуронидација, а со тоа и зголемување на плазмените концентрации на иринотекан. Поради ова, во 2005 година е ревидирано означувањето (сигнатурата) на лекот за да се препорача намалување на дозата кај пациенти за кои се знае дека се хомозиготи за UGT1A1*28 алелот. На пример, овој полиморфизам вклучува околу 10% од населението во Северна Америка. Во 2005 година од страна на Агенцијата за храна и лекови на САД (Food and Drug Agency, FDA), исто така е одобрен и тест за генотипизација т.е., за детекција и идентификација токму на UGT1A1*28 (PCR техника со флуоресцентна детекција). Овој факт укажува дека тестирањето на полиморфизмите кај гените кои кодираат транспортери понатаму може да го подобри квалитетот на третманот со иринотекан.

8.1.2. Семејство на ABCC транспортери

Протеинскиот производ на ABCC гените е познат како MRP или протеин поврзан со мултимедикаментозната резистентност.

За разлика од неутралните и катјонските хидрофобни соединенија кои се супстрати на P-гр (исто поврзан со мултимедикаментозната резистентност), MRP транспортираат *само анјонски соединенија*. Во семејството MRP познати се десет членови од кои најмалку седум може да бидат вклучени во појавата на резистенција кон антиканцерните хемотерапевтици (MRP1 до MRP7).

MRP се наоѓаат во различни ткива со заштитна и екскреторна функција како што се мозокот, црниот дроб, бубрезите и цревата. Транспортираат структурно различни ендогени супстанции, ксенобиотици и метаболити.

Постојат идентификувани генетски полиморфизми кај сите членови од ова семејство (на пример, испитувањата на полиморфизмот на ABCC1-5 покажале врска со зголемената чувствителност на јапонската популација кон тиопурины).

Транспортерот ABCC2 исто така е познат и како протеин на мултимедикаментозна резистенција-2 (MRP2) или каналикуларен мултиспецифичен транспортер на органски анјони (сМОАТ). Ова е најиспитуваниот член на семејството ABCC. Овој протеин се експресира во црниот дроб, бубрезите и цревата. Тој игра важна улога во заштитата од ксенобиотиците преку транспортот на производите од фаза II на метаболизмот надвор од клетките. Затоа, глукуронидите, глутатионските и сулфо-конјугатите на лекови се главни супстрати на MRP2. Овие конјугати се транспортираат од хепаталните клетки во каналчињата, а потоа во жолчката за излучување.

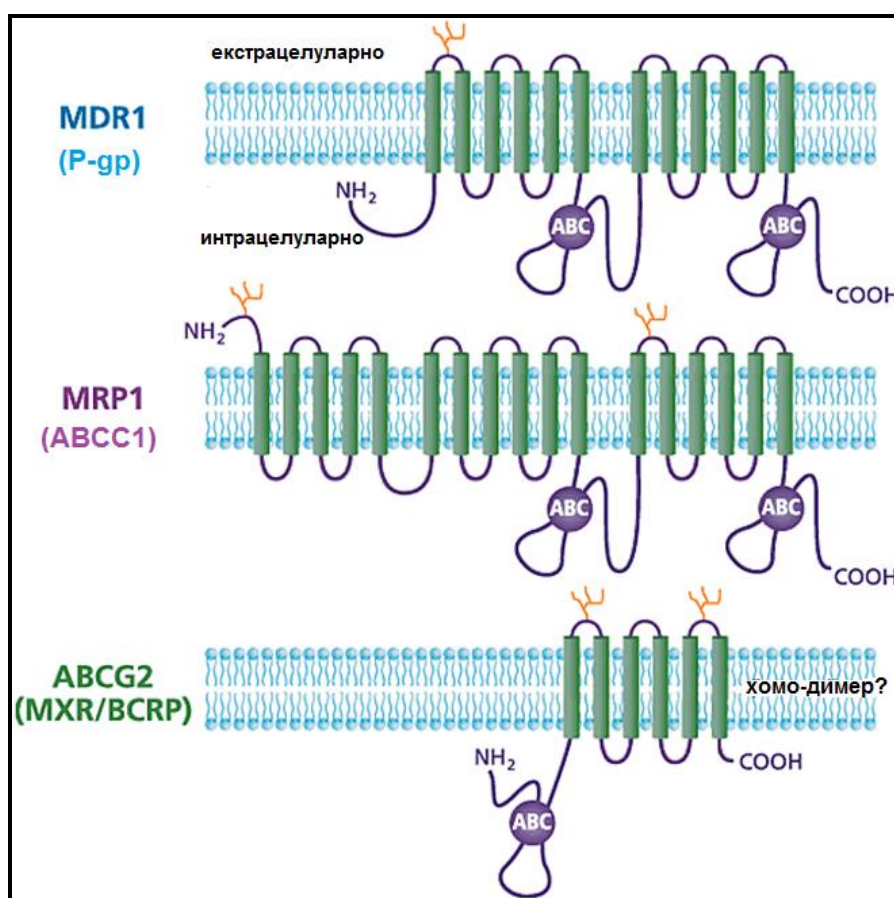
8.1.3. Семејство на ABCG2 транспортери

ABCG2 е алтернативно познат и како протеин на резистенција кај канцер на дојка (BCRP), плацента-специфичен ABC транспортер (ABCP) или протеин на резистенција кон митоксантрон (MTX).

Првично е идентификуван во резистентни клеточни линии од канцер на дојка. Се експресира во ГИТ, црниот дроб и плацентата и влијае на апсорпцијата и дистрибуцијата на широк спектар на лекови и органски анјони. Едно од основните ткива во кои ABCG2 се експресира кај човекот е синцитиотрофобластот. Прецизната физиолошка функција на протеинот на оваа локација не е јасна, но најверојатно игра важна улога во концентрирањето на лековите во мајчиното млеко, па оттаму и заштитата на фетусот од ксенобиотици, токсини и метаболити преку нивно исфрлање низ плацентата.

За разлика од остатокот од транспортерите од семејството ABC, ABCG2 содржи само едно врзувачко место за ATP и еден трансмембрански домен (наместо по два како кај другите) (слика 8.8).

ABCG2 ја определува резистенцијата кон широк спектар на хидрофобни антиканцерни лекови слично на P-gp, затоа се смета за еден од најважните ABC транспортери во посредувањето на развој на мултимедикаментозната резистенција кај канцерните клетки. Се знае дека постојат различни полиморфизми на ABCG2, некои од нив се поврзани со зголемена резистенција на антиканцерни лекови, како што се митоксантрон, антрациклини и деривати на камптотецин. Еден карактеристичен SNP на ABCG2 е поврзан со појава на несакани реакции кај пациенти третирани со гефитиниб (Iressa), инхибитор на рецепторот за епидермален фактор на раст (EGFR) кој се експресира кај рак на бели дробови. Лекови кои дејствуваат како инхибитори на ABCG2 се антивирусните нуклеозидни аналози како зидовудин (AZT), лопинавир, нелфинавир, итн. (*стратегија за намалување на резистенцијата кон некои лекови).



Слика 8.8. Мембрански модели на ABC транспортери (сличности и разлики меѓу различните типови)

8.2. SLC-мембрански транспортери и одговор кон лекови

SLC семејството вклучува гени кои кодираат транспортери за олеснета дифузија и јон-куплирани секундарни активни транспортери кои постојат во различни клеточни мембрани. Во човечкиот геном се идентификувани четириесет и три SLC семејства со околу 300 транспортери. Примери за некои ендогени компоненти (растворени во цитоплазмата) кои се транспортираат со овие носачи се стероидните и

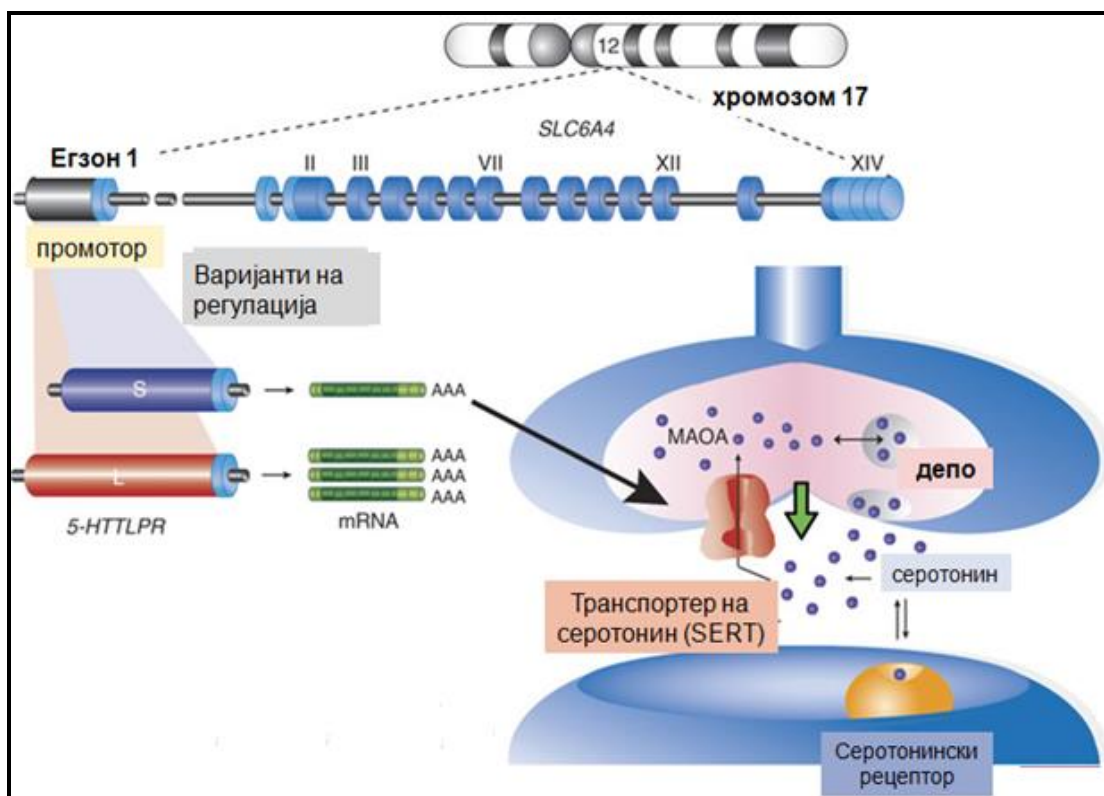
тироидните хормони, леукотриените и простагландините. Овие транспортери се важни и за транспортот на многу лекови, служат како целни места за лекови или пак учествуваат во апсорпцијата и диспозицијата на лековите. Овде спаѓаат транспортерите означени како **OAT** (Organic Anion Transporters, транспортери на органски анјони), **OATP** (Organic Anion Transporting Polypeptides, транспортни полипептиди за органски анјони) и **PepTs** (Peptide Transport Proteins, транспортни протеини за пептиди). Меѓу најпознатите SLC транспортери се вклучуваат серотонинските и допаминските транспортери, **SERT** (кодирани од генот SLC6A4) и **DAT** (кодирани од SLC6A3).

8.2.1. SLCO1B1 (OATP1B1)

Генските варијанти на SLC протеините, како што е SLCO1B1 имаат голема фармакогенетска важност. На пример, скенирањето на околу 300000 генетски маркери во едно испитување на миопатија индуцирана од статини покажува висока корелација со SNP во рамките на SLCO1B1 генот. SLCO1B1 го кодира натриум-независниот пептид (OATP1B1) за транспортирање на органски анјони. Докажан е зголемен ризик од развој на миопатија поврзана со употреба на симвастатин кај пациенти кај кои е присутна оваа мутација. Полиморфизмите на гените кои ги кодираат овие транспортери исто така се поврзани и со фармакокинетските варијации и кај други статини. На пример, променетото навлегување на правастатин во црниот дроб е поврзано со полиморфизми на SLC21A6 (OATP-C) и SLC22A8 (OAT3). Варијантите на SLCO1B1 исто така се поврзуваат со функционално релевантни SNP важни за фармакокинетиката и на други групи лекови, како што се иринотекан (метаболит SN-38), естрон 3-сулфат и естрадиол 17-бета глюкуронид.

8.2.2. SLC6 семејство

Членовите на семејството SLC6 се **натриум-зависни транспортери за невротрансмитери** како допамин, серотонин, норепинефрин, глицин и GABA. SLC6A4 е генот којшто го кодира серотонинскиот транспортер (SERT). Најдобар доказ за фармакогенетската важност во рамките на семејството SLC6 е пронајден кај SERT, кој е ко-транспортер за серотонин и натриумови јони. Негова физиолошка функција во синапсите е повторното преземање на серотонинот и со тоа завршување на иницираното сигнализирање. Бидејќи овој протеин е местото на дејствување на лековите од групата инхибитори на повторното преземање на серотонин (SSRI), има голем интерес за ефектот на полиморфизмите на SERT врз патологијата и дејството на овие лекови. **5HTTLPR промоторот** (промоторски регион поврзан со серотонинскиот транспортер) на генот SLC6A4 е интензивно проучуван за врската со невро-психијатриските болести (слика 8.9). Овој полиморфизам се јавува во регионот на промоторот на генот и е поврзан со кратки s и долги / повторувања во овој регион. Кратката верзија доведува до намалена промоторна активност и послаба транскрипција на SLC6A4, додека / алелот има спротивен ефект. Голем број на студии откриле дека ss генотипот или s алелот е одговорен за намалена ефикасност на антидепресантите, а // генотипот е поврзан со подобар одговорот кон терапијата кај индивидуата. Истражувањата покажуваат дека присуството на s алелот е поврзан со поголем број на несакани ефекти за време на лекувањето на депресија со селективни инхибитори на повторното преземање на серотонинот (пр. циталопрам).



Слика 8.9. Ефекти на полиморфизмите на SERT врз механизмот на дејствување на лековите инхибитори на повторното преземање на серотонин

8.2.3. SLC15 семејство

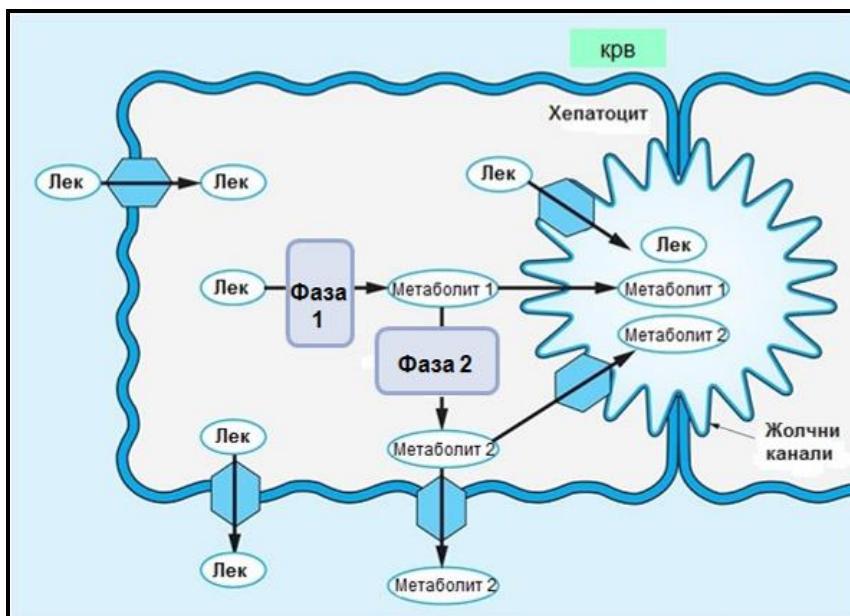
Транспортерите **PEPT1** и **PEPT2** (кодирани од **SLC15A1** и **SLC15A2**) се протон-куплирани транспортери на олигопептиди. Тие пренесуваат мали пептиди составени од два до три аминокиселински остатоци, како и пептид-слични лекови кои инаку не би ги поминале липидните мембрани. Цревните PEPT1 се вклучени во транспортот на цефалексин и други β -лактами. Инхибиторите на ангиотензин-конвертирачкиот ензим исто така се сметаат за супстрати за PEPT1 и PEPT2. Клиничкото значење на постоечки генетски варијации на PEPT1 или PEPT2 останува нејасно. Поради суштинската улога што PEPT1 ја има во нормалната хомеостаза, мутациите што резултираат со губење на активноста, најверојатно, подлежат на високо ниво на негативни еволутивни селекции. Во случајот на PEPT2, идентификувани се полиморфизми кои водат до загуба на транспортната функција и различен афинитет и pH чувствителност на транспортерот со можно влијание врз фармакокинетиката на лековите транспортирани од негова страна.

8.3. Мембрански транспортери и терапевтски одговор кон лекови

8.3.1. Фармакокинетика

Транспортерите важни за фармакокинетиката на лековите обично се наоѓаат во цревниот, бубрежниот и хепаталниот епител. Тие функционираат преку селективна апсорпција и елиминација на ендогени супстанции и ксенобиотици (влез и излез на супстанции), вклучувајќи ги и лековите. Транспортерите работат во координација со лек-метаболизирачките ензими за елиминација на лековите и нивните метаболити (слика 8.10). Покрај тоа, транспортерите во различни видови на клетки посредуваат и ткивно-специфична дистрибуција на лекови (целно насочување на лекови) и спротивно на ова, некои транспортери исто така, може да служат и како заштитни бариери за

одредени органи и типови на клетки. На пример, Р-гликопротеинот во крвно-мозочната бариера го штити централниот нервен систем од бројни структурно различни соединенија преку неговите механизми за внес на супстанции. Многу од транспортерите кои се релевантни за одговорот кон лекови ја контролираат дистрибуцијата во ткивата, како и апсорпцијата и елиминирањето на лекови.



Слика 8.10. Хепатални транспортери на лекови

Мембранските транспортери (прикажани како шестоаголници со стрелки), работат во согласност со лек-метаболизирачките ензими од Фаза 1 и Фаза 2 во хепатоцитите и посредуваат во „влез-излез“ на лековите и нивните метаболити.

8.3.2. Фармакодинамика: транспортерите како целни места за лекови

Мембранските транспортери се целни места на многу од клинички употребуваните лекови. На пример, невротрансмитерските транспортери се цели за лековите кои се користат во третманот на невропсихијатриски нарушувања (SERT е целно место на големата класа на лекови-антидепресиви, селективни инхибитори на преземањето на серотонин). Други транспортери на невротрансмитери служат како целни места за трицикличните антидепресиви, различни амфетамини (вклучувајќи амфетамин-слични лекови кои се користат за третирање на нарушувања поврзани со недостаток на внимание кај деца) и антиконвулзивни лекови. Овие транспортери, исто така, можат да бидат вклучени и во патогенезата на невропсихијатриски нарушувања, вклучувајќи ги Алцхајмеровата и Паркинсоновата болест. Транспортерите кои не се со невронална локација, исто така може да бидат потенцијални целни места на лекови, како на пример, транспортерите на холестеролот кај кардиоваскуларните болести, транспортерите на нуклеозиди кај различни канцери, транспортерите на гликоза кај метаболитичките синдроми и $\text{Na}^+\text{-H}^+$ антиеноспортерите кај хипертензијата.

8.3.3. Мембрански транспортери и резистенција кон лекови

Мембранските транспортери играат важна улога во развојот на резистенцијата кон антиканцерни лекови, антивирусните агенсии или антиконвулзивните лекови. На пример, Р-гликопротеинот се преекспресира во туморските клетки после изложеност на цитотоксични антиканцерни агенсии. Р-гликопротеинската пумпа ги испумпува овие

лекови надвор од клетката, правејќи ги клетките отпорни на нивните цитотоксични ефекти. Други транспортери, вклучувајќи ги протеинот за резистенција кај рак на дојка (BCRP), транспортерите на органски аниони како и неколку нуклеозидни транспортери, исто така, се вклучени во развивање на резистенцијата кон антиканцерните лекови. Пре-експресијата на протеинот на мултимедикаментозна резистенција 4 (Multidrug-resistance protein 4, MRP4) е поврзана со развивање на резистенција кон лековите од групата антивирусни нуклеозидни аналози.

8.4. Мембрански транспортери и несакани ефекти кон лекови

Преку механизмите за „влез-излез“, транспортерите се крајна контрола на изложеноста на клетките на хемиски канцерогени, токсини и лекови. Така, транспортерите играат критична улога во цитотоксичните ефекти на овие агенсии. Транспортер-посредуваните несакани реакции на лекови генерално може да се класифицираат во три категории, како што е прикажано на слика 8.11. Транспортерите во црниот дроб и бубрезите влијаат на изложеноста на лекови во токсиколошките целни органи. Транспортерите кои се експресираат во црниот дроб и бубрезите, како и метаболичките ензими, се клучните детерминанти на изложеност на лекови во циркулирачката крв (слика 8.11, А). На пример, после орална администрација на HMG-CoA редуктазен инхибитор (на пример, правастатин), ефикасното прво поминување на лекот во црниот дроб посредувано од транспортниот полипептид за органски аниони OATP1B1, ги максимизира ефектите од овие лекови врз хепаталната HMG-CoA редуктаза. Учеството на OATP1B1, исто така, го минимизира распространувањето на овие лекови во системската циркулација каде што може да предизвикаат негативни реакции, како на пример, скелетно мускулна миопатија.

Транспортерите во црниот дроб и бубрезите, кои го контролираат вкупното излучување на лекови, имаат влијание врз профилот на концентрацијата во плазмата и последователната изложеност на токсиколошките целни органи. Транспортерите во токсиколошките целни органи или во бариерите на ваквите органи влијаат врз изложеноста на лекови на целните органи. Транспортерите кои се експресираат во ткивата кои може да бидат целно место за токсичност (на пример, мозокот) или во бариерите на ваквите ткива (на пример, крвно-мозочната бариера (КМБ)) може цврсто да ги контролираат локалните концентрации на лековите и на тој начин да ја контролираат изложеноста на овие ткива (слика 8.11, Б). На пример, за ограничување на пенетрацијата на соединенијата во мозокот, ендотелијалните клетки во КМБ се тесно поврзани со цврсти врски, а исто така на допирната (луминална) страна со крвта на овие клетки се експресираат и некои транспортери за испумпување на супстанциите.

Друг пример за контрола на изложеноста на лекови од страна на транспортерите е интеракцијата на лоперамид и хинидин. Лоперамид е периферен опиоид кој се користи во третманот на дијареа и е супстрат на Р-гликопротеинот. Истовремена примена на лоперамид и моќниот Р-гликопротеински инхибитор хинидин, резултира со значителна респираторна депресија што всушност е несакан одговор кон лоперамид. Бидејќи плазмените концентрации на лоперамид не се менуваат во присуство на хинидин, се смета дека хинидинот го инхибира Р-гликопротеинот во КМБ, што резултира со зголемена изложеност на ЦНС на лоперамид и ја објаснува врквата со респираторната депресија. Инхибицијата на Р-гликопротеин-посредуваното испумпување на компоненти преку КМБ со тоа ќе предизвика зголемување на концентрацијата на супстрати во ЦНС и потенцирање на несаканите ефекти.

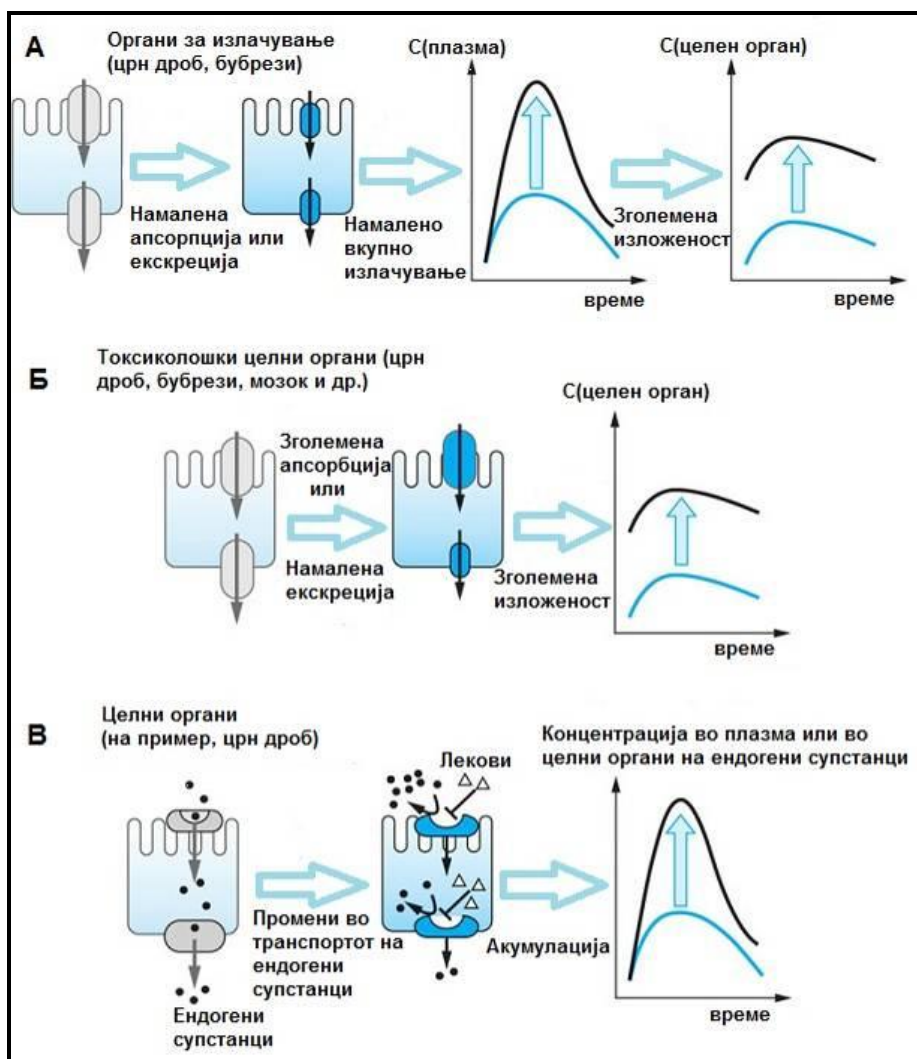
Токсичноста индуцирана од лекови понекогаш е предизвикана од концентрирана ткивна дистрибуција со посредство на транспортери за внес на супстанции. На пример, бигванидините (метформин и фенформин), кои широко се користат како орални хипогликемични агенсии за третман на тип II дијабетес мелитус,

може да предизвикаат млечна ацидоза (летален несакан ефект). Фенформинот е повлечен од употреба токму поради оваа причина. Бигванидините се супстрати на транспортерот за органски катјони OCT1, којшто значително се експресира во клетките на црниот дроб.

Транспортерот 1 за органски анјони (OAT1) обезбедува друг пример за транспортер-поврзана токсичност. OAT1 се експресира главно во бубрезите и е одговорен за реналната тубуларна секреција на анјонски соединенија. Некои ииспитувања посочуваат дека супстрати на OAT1, како што е цефалоридин (β -лактамски антибиотик), понекогаш предизвикуваат нефротоксичност. Направените *in vitro* експерименти укажуваат на тоа дека цефалоридин е супстрат на OAT1 и дека OAT1-експресирачките клетки се повеќе подложни на токсичност од цефалоридин отколку контролните клетки.

Транспортерите за ендогени лиганди може да се модулираат со лекови и со тоа да иницираат несакани ефекти (слика 8.11, B). На пример, жолчните киселини главно се преземаат од страна на Na^+ -таурохолат ко-транспортирачкиот полипептид (NTCP) и се излачуваат во жолчката од страна на одливната пумпа за жолчни соли (BSEP, ABCB11). Билирубинот се презема од страна на OATP1B1 и се конјугира со глукуронската киселина, а потоа билирубин глукуронидот се излачува од страна на транспортерот MRP2 (ABCC2). Инхибицијата на овие транспортери од страна на лекови може да предизвика холестаза или хипербилирубинемија.

Затоа, транспортерите за влез и за испумпување на супстанции ги одредуваат плазмените и ткивните концентрации на ендогени соединенија и ксенобиотици и со тоа значително може да влијаат на системската или на локално-специфичната токсичност на лековите.



Слика 8.11. Главни механизми со кои транспортерите посредуваат несакани реакции на лекови (на лево е прикажан механизмот, а на десно ефектот врз концентрацијата на лекот)

- А) Зголемување на плазмената концентрација на лекот поради намалување на апсорпцијата и/или екскрецијата во органите за излачување како што се црниот дроб и бубрегот.
- Б) Зголемување на концентрацијата на лекот во токсиколошките целни органи кое се должи или на зголемена апсорпција или на намалена екскреција на лекот.
- В) Зголемување на концентрацијата на ендогените соединенија (на пример, жолчна киселина) во плазмата кое се должи на лекови што инхибираат навлегување на ендогени соединенија во нивните елиминирачки или целни органи.

9. ИНТЕРАКЦИИ НА ЛЕКОВИ

9.1. Вовед

Лек-лек интеракциите може да се појават во различни фази после администрацијата на лековите, затоа тие систематски се поделени на интеракции поврзани со фармакодинамичката фаза, фармакокинетички интеракции и интеракции кои се случуваат во текот на фазата на биотрансформација. Познатите интеракции помеѓу лекови и храна, алкохол и чад од тутун се третираат одделно. Посебна карактеристика на ова поглавје е обемото сумарно прикажување на лек-лек интеракциите што служат како корисна референца за оние што се случуваат најчесто во клиничката пракса, заедно со наведување на нивните биолошки последици.

9.1.1. Дефиниции, концепти, општи аспекти

Денес, со зголемувањето на комплексноста на терапевтските агенсии кои ни се на располагање и широко распространетата полифармација (што е посебен проблем особено кај постарите лица кои добиваат повеќе лекови во исто време отколку помладите лица), потенцијалот за развој на интеракција со лекови е огромен. Лековите можат да интерферираат така што може да ја сменат апсорпцијата, дистрибуцијата, метаболизмот или екскрецијата на друг лек, или пак да дејствуваат синергетски или антагонистички со промена на нивната фармакодинамика. Најопшто, исходот на една интеракција може да биде **штетен, корисен или клинички незначаен**.

Иако клинички често пати може да останат и непрепознаени, многу од интеракциите со лекови се одговорни за зголемениот морбидитет кај пациентите и нивната важност во клиничката пракса е неспорна, бидејќи тие сочинуваат дури 6-30% од сите несакани реакции кон лекови.

Во некои случаи, интеракциите на лекови можат да бидат корисни и веќе е тековна пракса кај лекарите да користат познати позитивни интеракции при препишувањето на терапија за подобрување на ефикасноста во третманот на неколку болести како на пример епилепсија, хипертензија или канцер. Дobar пример кој ги илустрира корисните ефекти наместо несаканите ефекти на една интеракција е истовремената администрација на карбидопа (екстрацеребрален инхибитор на ензимот допадекарбоксилаза) заедно со леводопа за да се спречи периферната деградација на допаминот. Од друга страна, интеракцијата на теофилин со ципрофлоксацин, на пример, предизвикува двократно зголемување на нивото на теофилин во серумот, што резултира со токсичност на истиот и е одличен пример за интеракција на лекови со штетен ефект по пациентот.

Интеракцијата на лекови е мерлива модификација на изразеноста (интензитетот) или времетраењето на фармаколошкиот одговор на еден лек поради присуството на друг лек кој е пред- или коадминистриран со првиот. Обично, оваа модификација на дејството на еден лек од друг е резултат на еден или повеќе од четирите главни механизми:

- а) фармацевтски,
- б) фармакодинамички,
- в) фармакокинетички и
- г) метаболички.

Треба да се нагласи дека обично под терминот „интеракции на лекови“ се подразбираат лек-лек интеракции, иако може да се вклучат и интеракции помеѓу лековите и компонентите од храната, алкохолот или пак факторите од животната средина. Покрај тоа, во овој термин може да се вклучат дури и интерференции од лекови при клиничките лабораториски тестови кои се со важни последици за поставувањето на дијагнозата. Лекот може исто така, да интерферира и со болести, потенцијално до влошување на нивните симптоми.

Според една важна дефиниција, интеракцијата со лекови се смета дека се јавува кога ефектите на давање на два или повеќе лекови се квалитативно и квантитативно различни од збирот на набљудуваните ефекти кога истите дози на истите лекови се даваат одделно. За среќа, многу од интеракциите се предвидливи и избегнувањето на несаканите ефекти или терапевтската неефективност е можно. Затоа, приоритетите на клиничките фармацевти денес, за да се зголеми веројатноста за идентификување или спречување на негативните реакции кон лекот, првенствено вклучуваат познавање или предвидување на ситуациите во кои потенцијалната интеракција со лекови е веројатно да има клинички значајни последици, препознавајќи ги клиничките параметри и разбирајќи ги механизмите со кои тие се појавуваат. Во овој случај е важно да се препорачаат чекори што може да се преземат за да се избегнат можните интеракции како на пример, менување на секвенцата на администрација и временскиот интервал помеѓу администрацијата на два лека, или пак по можност алтернативни третмани со други лекови.

9.2. Интеракции поврзани со фармакодинамичката фаза

Фармакодинамичките интеракции кои се најчестите интеракции на лекови во клиничката пракса, се оние кај кои ефектите на еден лек се менуваат поради присуството на друг лек на местото на дејствување. Повеќето од овие интеракции имаат едноставен механизам на настанување, кој се состои или од сумирање или од одземање на ефектите на лековите, со што тие може да бидат или синергистички или антагонистички. Повеќето од овие интеракции се предвидливи така што не е изненадувачки, на пример, дека две супстанции со седативно дејство (на пример, алкохол и бензодиазепини) можат да го потенцираат седативното дејство една со друга. Други синергистички интеракции се оние меѓу различните типови на лекови, како што се тетрациклините, клофибратот и естрогените со варфаринот, што доведува до зголемен антикоагулантен ефект на последниот. Кога два лека истовремено се администрираат, а имаат слични несакани ефекти, нивната интеракција може да произведе адитивни несакани ефекти. На пример, хидрокортизон и хидрохлортиазид заедно може да предизвикаат адитивен несакан ефект од хипергликемија или хипокалемија. Друг пример е зголемениот ризик од крварење кај пациенти кои се на антикоагулантна терапија и кои земаат истовремено и салицилати.

Во некои случаи може да се појават важни интеракции помеѓу лековите кои дејствуваат на еден ист рецептор. Многу од овие интеракции можат да бидат и корисни кога се применуваат намерно, на пример антидотна терапија (употребата на налоксон за да се лекува интоксикацијата од опијати).

Антагонистичките интеракции можат да бидат делумни, кога крајниот антагонистички ефект е помал од оној на збирот на поединечните или целосни кога како краен ефект воопшто нема никаков ефект од апликацијата на лекот. Добар пример е оној за антипаркинсоновиот лек леводопа, чие дејство може да биде антагонизирано од одредени допамин-блокирачки лекови како што се халоперидол и хлорпропамид. Обично ваквите интеракции се должат на директните ефекти со рецепторите (исти или различни), но почесто, исто така, може да се појават и преку индиректни механизми, поради комбинирани интерференции на рецепторни ефекти со биохемиски или физиолошки механизми. Ако и двата лека се натпреваруваат

директно за истиот рецептор, често таквите интеракции вклучуваат посложени интерференции со физиолошките механизми.

Честопати, ризикот од токсични ефекти може да се потенцира преку фармакодинамички механизам на интеракции. Типичен пример е оној на индуцираната хипокалемија и хипомагнезијемија од диуретици, кои можат да дејствуваат така што може да го зголемат ризикот на аритмиите предизвикани од дигоксин.

Покрај адитивните (или синергистички) и антагонистичките интеракции, во категоријата на фармакодинамички интеракции, исто така може да бидат вклучени и интеракциите кои настануваат поради промени во механизмите за транспорт на лековите. На пример, трицикличните антидепресанти можат да го потенцираат дејството на епинефрин и норепинефрин преку блокирање на невроналното повторно превземање на амините. Истите трициклични антидепресанти, најверојатно по истиот механизам како погоре, може да ги спречат антихипертензивните ефекти на одредени лекови од групата на адренергични невронски блокатори (на пример, дебрисоквин, бетанидин).

Исто така забележливи се и индиректните фармакодинамички интеракции, од кои неколку се со потенцијално клиничко значење. Добро познат пример е коадминистрацијата на аспирин и други лекови од НСАИЛ со антикоагулантите, како што е варфаринот. Бидејќи се знае дека овие лекови предизвикуваат гастроинтестинални лезии и улцерации, очигледно е дека таквата истовремена администрација може да обезбеди фокус за крварење. При истовремената администрација со антикоагуланси, салицилатите исто така може да доведат и до засилување на тенденцијата за крварење преку инхибиција на тромбоцитната агрегација.

9.3. Фармакокинетички интеракции

Фармакокинетичките интеракции на лекови може да се појават за време на кој било од процесите кои ја претставуваат судбината на лекот во телото и придонесуваат за фармакокинетичкиот профил на лекот. За секоја супстанција која се развива како нов лек-кандидат, се прават темелни прелиминарни испитувања пред да се појави на пазарот кои ќе го потврдат или присуството или отсуството на можни фармако-кинетички интеракции кои таквиот лек би можел да ги предизвика.

Фармакокинетичките интеракции можат да влијаат на:

- а) **апсорпцијата** на орално администрираните лекови, преку различни механизми како што се хемиски интеракции (хелатирање и комплексирање), промена на гастроинтестиналниот моталитет, промени во гастроинтестиналното рН, пертурбација на гастроинтестиналната флора;
- б) **дистрибуцијата** на лекот
- в) **метаболизмот** на лековите (особено преку ензимска индукција или инхибиција) и
- г) **екскреција**.

Во ова поглавје ќе бидат опфатени и објаснети само интеракциите кои се случуваат во рамките на процесот на метаболизам на лековите.

9.3.1. Интеракции за време на фазата на метаболизам на лекови

Поради значајни варијации кај различните пациенти, метаболизмот на еден лек може да биде драматично под влијание од други пред- или ко-администрирани лекови.

Всушност, се претпоставува дека клинички најзначајните интеракции со лекови се резултат од пертурбации и влијанија врз метаболизмот на лекови, кои вклучуваат или индукција или инхибиција на метаболизирачките ензими. Кога два лека се метаболизираат со ист опсег на ензими, може да доведе до промени во степенот или зголемување или намалување на метаболизмот на кој било од двата или и на двата лека, со последователни промени во нивните плазмени концентрации.

а) Интеракции поврзани со инхибиција на ензими

Намалувањето на ензимската активност, што е исклучително чест механизам на интеракцијата помеѓу два лека, често резултира со висока плазмена концентрација на лековите, зголемен и продолжен одговор, а потоа и зголемен ризик од токсичност. Директните последици од инхибиторните интеракции може да бидат потешки од оние од индукцијата, кои често доведуваат само до намалена ефикасност на лекот. Клинички најзначајните интеракции од овој тип обично најчесто го вклучуваат цитохром P450 ензимскиот систем.

Интеракциите каде што основа е инхибицијата на различни ензими се базирани на неколку различни механизми. Меѓу нив, веројатно најчеста и најзначајна е супстратната конкурентна (компетитивна) инхибиција. Други важни механизми се интерференции со транспортот (преносот) на лекови, промена на конформацијата (или експресијата) на P450 ензимот, како и интерференција со енергетските или со ензимските донор/акцепторни кофактори. Понекогаш, конкуренцијата дури може да резултира и со неповратна инактивација на ензимот, механизам кој води кон најдолготрајни ефекти.

Лековите кои се способни да ги инхибираат микрозомалните оксидази со мешани функции (т.е. цитохромните P450 ензими) со конкурентно врзување за ензимот, обично формираат стабилен комплекс со него, што ќе го спречи пристапот на другите агенси до ензимскиот систем. Лекови кои најчесто се вклучени во ваков вид на интеракции (поради ензимска инхибиција) се:

- амиодарон,
- азапропазон,
- хлорамфеникол,
- циметидин,
- ципрофлоксацин,
- дилтиазем,
- дисулфирам,
- еноксацин,
- еритромицин,
- етанол,
- флуоксетин,
- флувоксамин,
- изонијазид,

- флуконазол, итраконазол, кетоконазол, метронидазол, миконазол,
- нефазодон,
- омепразол,
- орални контрацептивни средства,
- пароксетин,
- фенилбутазон,
- пропоксифен,
- хинидин,
- сулфонамиди,
- валпроична киселина и
- верапамил.

Клиничкото значење на овој тип на интеракции зависи од различни фактори како што се вклучените лекови (на пример, дозирањето, промена во фармакокинетичките својства на засегнатиот лек) и карактеристиките на пациентот (како што е состојбата на здравје, болест, придружни заболувања и терапија за нив, начин на живот и.т.н.). Најверојатно е дека интеракциите од овој тип ќе ги засегаат лековите со тесен терапевтски опсег.

Карактеристични примери за инхибиторни интеракции се:

- Асоцијацијата на циметидин или ципрофлоксацин (овие два лека се ензимски инхибитори) со теофилин, може да резултира со удвојување во плазмената концентрација на теофилин.
- Тешка интеракција настанува по истовремена администрација на ензимските инхибитори еритромицин или кетоконазол со терфенадин. Терфенадин се метаболизира во активен метаболит со CYP3A4, а од друга страна, кетоконазолот е силен инхибитор на CYP3A4 изоформата, па истовремената администрација со терфенадин драматично го намалува метаболизмот на последниот, што резултира со зголемување на плазмената концентрација на лекот (води до развој на вентрикуларни аритмии и пролонгација на QT интервалот).
- Пример за стереоселективна инхибиција е интеракцијата помеѓу варфарин и еноксацин. Варфаринот постои во две енантиомерни форми, (*R*)-варифарин и (*S*)-варифарин. (*S*)-енантиомерот е поактивен од (*R*)-енантиомер. Кај луѓето, (*S*)-енантиомерот речиси целосно се елиминира како (*S*)-7-хидроксилиран метаболит, додека (*R*)-енантиомерот претежно се биотрансформира во (*R*)-6-хидроксилиран метаболит. Кoadминистрацијата на еноксацин го инхибира метаболизмот на помалку потентниот (*R*)-енантиомер, што предизвикува намалување на излучувањето (клиренсот). Од друга страна, истовремената администрација на фенилбутазон го инхибира метаболизмот на помоќниот (*S*)-варфарин, што резултира со негова поголема концентрација во плазмата и подоцна и зголемени антикоагулантни ефекти (антикоагулантната потентност на (*S*)-енантиомерот е пет пати поголема од онаа на (*R*)-енантиомерот).
- Флуоксетин и имипрамин: и двата лека се ко-супстрати за истата CYP2D6 изоформа, при што истовремената примена доведува до неколкукратно зголемување на

плазмената концентрација на имипрамин поради истиот конкурентен инхибиторен механизам објаснет погоре.

б) Интеракции поврзани со индукција на ензими

Ензимската индукција може да се јави по повеќе различни механизми, но генерално резултира со зголемени количини на ензимите, а со тоа и зголемена брзина на реакцијата на метаболизирање. Во принцип, двете главни последици кои се јавуваат кај интеракциите базирани на индукција се или зголемен метаболички клиренс, што доведува до намален терапевтски ефект, или спротивното, т.е. метаболичко активирање што води до добивање на токсичен метаболит и зголемена токсичност како резултат. На пример, зголемениот ризик од ацетаминофен-индуцирана хепатотоксичност при истовремената администрација со изонијазид е како резултат на формирањето на токсичен метаболит на ацетаминофенот. Интересно е да се забележи дека феноменот на ензимската индукција првенствено влијае врз метаболизмот во фаза I, иако постојат и докази и дека некои реакции од фаза II исто така може да бидат засегнати. Ефектите од ензимската индукција значително варираат помеѓу индивидуите, во зависност од различни фактори како што се возраста, истовремената терапија со лекови, генетските фактори и постоењето на некое заболување. Индукцијата на ензимите главно е зависна од дозата на лекот и претставува процес на привремена адаптација со зголемување на концентрацијата на специфичен ензим. Процесот во суштина се должи или на зголемувањето на брзината со која ензимот се синтетизира, или на намалувањето на брзината на неговата деградација. Ензимски индуктори кои најчесто се среќаваат во клиничката пракса се лековите:

- барбитурати,
- карбамазепин,
- гризеофулвин,
- фенитоин и
- рифампицин.

Некои познати примери и најпроучуваните интеракции на лекови од овој тип се:

- Варфарин и фенобарбитон: Фенобарбитон е познат како моќен индуктор на многу P450 изоформи, вклучувајќи ги и оние кои се вклучени во метаболизмот на варфаринот. Како последица на ензимската индукција, плазмените нивоа на варфарин до толку се намалуваат што со цел да се одржи терапевтскиот ефект, ќе биде потребно значително зголемување на терапевтската доза. Во вакви околности, се препорачува постојано мониторирање на концентрацијата на лекот во плазмата.

- Нелфинавир и рифампицин: Овие два лека се користат во терапија кај ХИВ-пациенти. Нелфинавир е инхибитор на нуклеозидната реверзна транскриптаза и делумно се метаболизира од P450 изоензимот CYP3A. Антитуберкулозотикот рифампицин е многу потентен индуктор на оваа изоформа и последователно го зголемува метаболизмот на нелфинавир, што резултира со негова интензивна елиминација од телото. AUC на нелфинавир драстично се намалува (дури околу 80%) и затоа се препорачува избегнување на оваа комбинација. Алтернатива може да биде истовремената администрација на рифабутин, кој исто така е ензимски индуктор, но

многу помалку потентен од рифампицин, па во овој случај AUC на нелфинавир се намалува за само околу 30%. И другите индуктори на изоформата CYP3A, како што се карбамазепин, фенобарбитон и фенитоин се очекува дека ќе произведат сличен феномен на намалување на плазмената концентрација на истовремено аплицираните лекови и затоа е најдобро да се избегнуваат таквите комбинации.

9.3.2. Различни избрани примери за интеракции меѓу лекови

Постојаниот интерес за можните несакани ефекти кои можат да произлезат од интеракциите со лекови се рефлектира во бројните испитувања и клиничките студии кои имаат за цел да ги откријат, предвидат и минимизираат ваквите ефекти. Засега вниманието најмногу се фокусира на можните интеракции при ко-администрации на новите лекови и последиците од терапевтско или токсиколошко значење на ваквите потенцијални интеракции. Примери за тоа се следниве:

- Големо значење имаат фармакокинетичките интеракции на хербалните лекови и лекови од различни групи, имајќи предвид дека во последниве години е сè поизразена примената и на компоненти од растително потекло како регистрирани лекови, хербални лекови или додатоци на храна. Под претпоставка дека повеќето хербални лекови имаат широк терапевтски опсег, со цел да се идентификуваат и да се предвидат таквите интеракции, потребен е систематски *in vitro* скрининг, како и повеќе клинички студии.

- Интеракциите помеѓу лековите од групата на статини и лекови од различни други групи или дури и храна од неодамна исто така заземаат важно место во испитувањата на лекови. Статините, лекови кои во моментот се користат за третман на хиперлипидемии, конкурентно го инхибираат ензимот HMG CoA редуктаза кој се наоѓа во црниот дроб. Статините, исто така, покажуваат и афинитет за различни изоензимски форми на CYP P450 (CYP3A4, 2C8, 2C9). Поради ова, се очекува тие да бидат вклучени во повеќе интеракции со метаболизмот на многу други лекови. Сите статини се апсорбираат орално, па затоа влијанието на храната присутна во желудникот може да биде исклучително важно во постигнувањето на саканиот терапевтски ефект. Обично, се препорачува индивидуализација на третманот за да се избегнат интеракции и да се подобри оваа форма на третман на хиперлипидемија. Ограничен број на резултати од испитувања покажуваат дека антикоагулантните ефекти на варфарин може да бидат зголемени кај некои пациенти кај кои истовремено се администрира ловастатин. Претпоставен механизам е инхибицијата на ензимите, што резултира со зголемени антикоагулантни ефекти на варфарин, со последователно крварење и зголемено протромбинско време. Друга важна интеракција на статините е со лекот итраконазол. Итраконазол е моќен инхибитор на изоформата CYP3A4. Некои од статините, како што се ловастатин и симвастатин, се метаболизираат од страна на CYP3A4 и при истовремената администрација на итраконазол, серумските нивоа на статините драматично се зголемуваат поради инхибирачкото ензимско дејство од страна на итраконазолот. Најчеста препорака во случај на неизбежна ко-администрација на итраконазол е намалување на дозата.

- Интересни се можните фармакокинетички и фармакодинамички интеракции на повеќе групи лекови (како што се аналгетици, антибиотици, антикоагуланси, антиконвулзиви, антихипертензиви, β -блокатори, лекови кои дејствуваат на ГИТ, НСАИЛ) и серија на лекови од групата на антидепресиви. Како ко-супстрати на истата P450 изоформа, многу лекови од овие групи даваат потенцијални интеракции со антидепресивите.

- Многу од испитувањата на лекови во последниве години се базираат на потребата да се индивидуализираат терапевтските шеми за да се избегнат интеракции со опасни несакани ефекти. Овие испитувања во основа ги имаат интер-индивидуалните разлики во активностите на лек-метаболизирачките ензими како последица на фармакогенетски фактори за кои всушност е докажано дека играат важна улога во одговорот на индивидуите кои добиваат ист, специфичен третман (иста доза, интервали на администрација и сл.) со ист лек. Постојат особено големи интер-индивидуални варијабилности во метаболизмот на пример, на рисперидон, лек кој главно се метаболизира до соодветен 9-хидроксилиран метаболит со специфични P450 изоформи и тоа особено CYP2D6. Бидејќи постојат голем број на лекови кои се метаболизираат од истата изоформа, евалуацијата на можните интеракции поради влијанија врз овој ензим како и последователното клиничко значење на овој феномен се појавуваат како важен проблем.

- Употребата на имunosупресивни лекови препишувани на пациенти за да се спречи отфрлање на трансплантирани органи или ткива, како и во третманот на автоимун болести, е во постојан пораст. Затоа, потребно е добро познавање на фармакокинетиката на оваа група лекови за избегнување на различни лек-лек интеракции кои можат да се појават при истовремената примена на други лекови наменети за третман на основното заболување на пациентот, како што се такролимус, сиролимус, моноклонални антитела или глукокортикоиди.

- Откриени се и интеракции помеѓу HCAИЛ и инхибиторите на ангиотензин конвертирачкиот ензим (ACE-инхибитори) при истовремена администрација. ACE-инхибиторите се индицирани во третманот на хипертензија, миокарден инфаркт и конгестивна срцева слабост.

- Се покажало дека оралните контрацептиви се инволвирани во многу интеракции со други лекови, што во крајна линија ја намалува нивната контрацептивна ефикасност. Вакви интеракции се можни со различни лекови како на пример, антиконвулзиви, антибиотици, адсорбенти, аналгетици и кортикостероиди.

- Невромускулниот блокатор сукцинилхолин хидрохлорид не се метаболизира како што е вообичаено во црниот дроб, туку во серумот од страна на циркулирачкиот ензим псевдохолинестераза. При истовремената администрација на циклофосфамид, кој иреверзибилно го инхибира овој ензим, се намалува метаболизмот на сукцинилхолин. Како резултат на ова, може да се појават респираторна инсуфициенција и продолжена апнеа кај пациентот.

- Докажани се значителни клинички интеракции при ко-администрација на литиумови соли со голем број на лекови, вклучувајќи ги антидепресивите, невролептиците, антиконвулзивите, антибиотиците, мускулните релаксанти, хемотерапевтиците и хормоните.

- Метотрексат се излучува главно непроменет во урината, затоа е кандидат за интеракции кои настануваат на ниво на екскреција. Некои од лековите за кои се знае дека стапуваат во интеракции со метотрексат се анјонски смоли, HCAИЛ, пеницилини, урикозурични препарати и алкализатори на урината најверојатно преку механизмите за екскреција. Познато е дека HCAИЛ ја инхибираат синтезата на простагландини

(PGE₂) што ќе резултира со пад на бубрежната перфузија. Како последица на тоа, порастот на серумските нивоа на метотрексат се забележливи што доведува до зголемување на неговата токсичност. Исто така, се претпоставува дека важна улога може да игра и нарушувањето на протеинското врзување на лекот. Во обид да се избегнат овие интеракции, ако истовремено се користи и лек од групата на НСАИЛ, се препорачува третманот внимателно да се следи и да биде достапна терапија со фолна киселина за третирање на несаканиот ефект ако се појави. Друг интересен пример со сериозни клинички последици е истовремената администрација на метотрексат и пеницилините кои дејствувајќи како слаба киселина, ќе се натпреваруваат со метотрексатот во бубрежните тубули за екскреција. Бидејќи е докажано дека пеницилините предизвикуваат значително намалување во излачувањето на метотрексат од телото, како резултат на таквите интеракции регистрирана е тешка токсичност дури и со смртни последици.

- Покажано е стимулативно дејство на ацетаминофен врз пероксидативниот метаболизам на антрациклините преку ефектот на ензимска индукција. Честопати администриран истовремено со различни антрациклини, како што се даунорубин и доксорубин, ацетаминофенот ја стимулира нивната оксидација преку лакто- и миелопероксидазните ензимски системи, резултирајќи со добивање на изменети продукти. Овој феномен има значително клиничко значење, бидејќи биолошките својства на трансформираниите антрациклини се сосема различни од оние на соодветните родителски лекови. Можно е оваа зголемена деградација на родителскиот лек предизвикана од ацетаминофен да интерферира со ефектите на овие лекови (терапевтскиот антиканцерен ефект и/или индуцираната кардиотоксичност).

- Омепразол и кларитромицин е комбинација која често се користи во третманот на гастродуоденален улкус поврзан со *Helicobacter pylori*. Докажано е дека постои фармакокинетичка интеракција помеѓу овие два ко-администрирани лекови, со последици по метаболизмот на омепразол, при што резултатот од интеракцијата е позитивен за пациентот. Комбинацијата резултира со значително намалена вредност на концентрацијата (речиси за една половина) на 5-хидроксилираниот метаболит на омепразол и доведува до зголемени нивоа на непроменет омепразол (средната вредност на AUC се зголемува два пати). Клиренсот и обемот на дистрибуција на омепразол драматично се намалуваат при истовремена администрација со кларитромицин што резултира со значително зголемени нивоа на омепразол, што може последователно да го подобри терапевтскиот одговор на овој лек. Интересно е дека не се забележани значајни промени во фармакокинетиката на пантопразол и неговите метаболити кога тој се ко-администрира со кларитромицин.

- Интересен пример за лек кој што го инхибира метаболизмот на друг лек-супстрат на специфичната изоформа CYP2D6 е ефектот на целекоксиб врз фармакокинетиката на метопролол. Бидејќи целекоксиб го инхибира метаболизмот на метопролол, се очекува да се зголеми AUC на метопролол, што всушност и се случува и тоа речиси двојно. Интеракциите кои можат да се појават помеѓу целекоксиб и различни други супстрати на CYP2D6 може да бидат од голема клиничка важност, особено со лековите кои имаат тесен терапевтски индекс.

Други чести и важни интеракции се прикажани во табелата подолу (табела 9.1.) заедно со биолошките ефекти што се јавуваат како последица од нив.

Табела 9.1. Избрани примери за чести лек-лек интеракции и нивните последични биолошки ефекти

Лек	Лек кој стапува во интеракција	Последици од интеракцијата
Ацетаминофен (парацетамол)	Алкохол	Тешка хепатотоксичност дури и при терапевтски дози на ацетаминофен кај тешки алкохоличари (се зголемува формирањето на токсични метаболити на ацетаминофен и се исцрпуваат депоата на глутатион)
	Орални антикоагуланси	Зголемен антикоагулантен ефект (непознат механизам)
	Барбитурати	Хепатотоксичност на ацетаминофен (непознат механизам)
	Бензодиазепини	Можна токсичност на диазепам (непознат механизам)
	Зидовудин	Гранулоцитопенија (непознат механизам)
Ацикловир	Пробенецид	Можна токсичност на ацикловир поради намалена бубрежна екскреција
	Зидовудин	Летаргија (непознат механизам)
Аминогликозидни антибиотици	Антимикотици	Нефротоксичност (поради синергизам)
	Цефалоспорини	Нефротоксичност (непознат механизам)
	Дигоксин	Намален ефект на дигоксинот (поради можно намалување на апсорпцијата)
	Фуросемид	Ототоксичност и нефротоксичност (поради адитивен ефект)
Антациди	Антихистаминици, H ₂ -блокатори	Намален ефект на ранитидин, циметидин и низатидин (поради намалена апсорпција)
	В-адренергични блокатори	Намален ефект при орална примена (поради намалена апсорпција)
	Кортикостероиди	Намален ефект при орална примена на кортикостероидите (поради намалена апсорпција)
	Орални хипогликемични лекови	Можна хипогликемија (поради зголемена апсорпција и забрзан инсулински одговор)
	Витамин D	Можна коскена токсичност со алуминиумови соли (поради зголемено натрупување на Al во коските веројатно поради зголемена апсорпција)
Хлорамфеникол	Орални хипогликемични лекови	Намален хипогликемичен ефект (непознат механизам)
	Фенитоин	Токсичност на фенитоин (поради намален метаболизам)
	Метронидазол	Дистонични реакции (непознат механизам)
Естрогени	Фенитоин	Намален естрогенски ефект (поради зголемен метаболизам)
	Витамин C	Зголемена серумска концентрација и можна токсичност на естрогените при внес на 1g/дневно вит. C (поради намален метаболизам)
Халоперидол	Барбитурати	Намален ефект на халоперидолот (поради зголемен метаболизам)
	Литиум	Енцефалопатија, летаргија, треска, конфузии, екстрапирамидални симптоми
	Метилдопа	Деменција (непознат механизам)

Инсулин	АСЕ инхибитори	Зголемен хипогликемичен ефект
	Салицилати	Можен зголемен хипогликемичен ефект (непознат механизам)
Нифедипин	НСАИП	Можен намален антихипертензивен ефект при интеракција со индометацин (непознат ефект)
	Селективни инхибитори на превземањето на серотонин	Токсичност (нифедипин+флуоксетин) (поради намален метаболизам)
Сулфонамиди	Барбитурати	Зголемен ефект на тиопентал (поради намалено врзување за албумините)
	Орални хипогликемични лекови	Зголемен хипогликемичен ефект (непознат механизам)
Тетрациклини	Дигоксин	Можна токсичност на дигоксинот (поради намален цревен метаболизам и зголемена апсорпција)
	Фенитоин	Намален ефект на тетрациклините (поради намален метаболизам)
	Цинк, калциум	Намален ефект на тетрациклините (поради намалена апсорпција)
Верапамил	Карбамазепин	Токсичност на карбамазепинот (поради намален метаболизам)
	Клонидин	А-V блок (поради можен синергистички ефект)

Од горенаведените примери, може да се забележи дека лек-лек интеракциите можат да се појават поради различни механизми и во повеќето случаи познато е дека настануваат на молекуларно ниво. Овие варијации може да ги имаат како целни места апсорпцијата, процесите на протеинско врзување или екскрецијата, но најчесто тоа е процесот на метаболизам. За некои интеракции, механизмите сè уште не се познати, но истите се откриени и потврдени преку клинички набљудувања. На секое ниво, промените или го зголемуваат или го намалуваат ефектот од администрацијата на различните лекови.

Во повеќето случаи, интеракцијата го модифицира ефектот на само еден од ко-администрираните лекови. За жал, постојат и случаи кога таквите интеракции може да предизвикаат и различни патологии, вклучително и нефротоксичност, хепатотоксичност, ототоксичност, А-V блок, метхемоглобинемија, леукопенија, рекурентна невромускулна блокада, панцитопенија, конфузија, кататонска реакција, дезориентација и многу други. Во овој контекст, покрај ограничувањето на политерапијата, строго се препорачува кај пациентите за кои се знае дека страдаат од на пример, хепатални или бубрежни болести или пак различни типови реакции на пречувствителност (хиперсензитивност), постојано да се следат ефектите од терапијата со лекови.

9.4. Интеракции меѓу лекови и други компоненти

9.4.1. Интеракции на лекови со храна

Присуството на храна во желудникот е многу важно особено за процесот на апсорпција, бидејќи може да предизвика неправилности при апсорпцијата на лекот или намалување на рН во желудникот. Исто така, важно е да се истакне значењето и на брзината на празнење на желудникот и избегнувањето на одредени нутриенти од храната за време на терапија со специфични лекови. Фармакокинетичките интеракции лек-храна може да влијаат на плазмените нивоа на лековите, како и на биорасположивоста поради промени кои произлегуваат од истовремената употреба на

лекови и оброци. Така, и покрај администрирањето на регуларна доза на лекот, може да се случи намалување на посакуваниот и очекуваниот ефект. Во многу малку случаи, истовремената примена на дозата на лекот и на храна може да биде корисно. Таков пример е истовременото внесување на храна и лекот пропранолол што може да ја зголеми биорасположивоста на пропранололот (поради транзиторна инхибиција на неговата пресистемска примарна конјугација).

Новото знаење кое се однесува на интеракциите помеѓу лековите и храната постојано се акумулира. Во овој контекст, фармакокинетичките интеракции опфаќаат не само интеракции лек-лек и лекови/хербални лекови, но исто така и интеракции кои вклучуваат нутриенти од храна, па дури и пијалоци. Еден понов пример, споменат и претходно во текстот, се можните интеракции помеѓу храната и лековите од групата на статини. Ова е од голема важност бидејќи исхраната игра суштинска улога и значително влијание врз превенцијата и/или третманот на оваа патологија (хиперлипидемијата). Како последица на ваков тип интеракции, терапијата најчесто се започнува во комбинација со совети за исхрана на пациентот. Ова е многу важен аспект поради неколку причини:

- Сите статини се аплицираат орално, така што внесот на храна е од исклучително значење за постигнувањето на соодветен терапевтски ефект.
- Задолжително е потребно избегнувањето на можните интеракции помеѓу статините и компоненти од прехранбените производи.
- Статините се супстрати за различни CYP450 изоформи, што ги прави можни кандидати за интеракции со различни компоненти на храната што се супстрати за истите ензими.

Друг добро познат пример е сокот од грејпфрут. Овој пијалок, кој често се консумира од општата популација (особено во некои земји во светот), е инхибитор на цревната CYP3A4 изоформа која е одговорна за метаболизмот при прв премин на многу лекови. Можните интеракции коишто може да се појават ќе доведат до зголемување на серумските нивоа и/или намален клиренс на лекот, што го зголемува ризикот од предозирање. Некои од најзначајните интеракции на сокот од грејпфрут се однесуваат на циклоспорините и некои анатогонисти на калциумот (и други лекови кои се супстрати за изоформата CYP3A4). Иако овие интеракции во повеќето случаи не мора да го менуваат одговорот кон лекот, сепак се препорачува или да се даде алтернативен лек (оној којшто не стапува во интеракција со сок од грејпфрут), или избегнување на комбинацијата за да се спречи токсичност.

9.4.2. Интеракции на лекови со алкохол

Веќе многу години наназад ефектите на интеракциите помеѓу алкохолот и различните лекови се предмет на бројни проучувања. Прво што треба да се нагласи е дека ефектите на овој тип интеракција зависат од тоа дали консумацијата на алкохол е хронична или акутна. На пример, при хронична злоупотреба со алкохол, ефектот на терапијата со антикоагуланти може драстично да се намали поради зголемената брзина на нивниот метаболизам (во овој случај алкохолот е ензимски индуктор), а пак од друга страна, при акутна интоксикација со алкохол, се зголемуваат антикоагулантните ефекти и на оралните антикоагуланти и на хепаринот (во овие околности алкохолот дејствува како ензимски инхибитор). Важни лекови за можни интеракции во кои може да биде вклучен алкохолот се барбитуратите, бензодиазепините, β -адренергичните блокатори, хлорал хидратот, циклоспорините, фелодипин, хипогликемиците, изонијазид, нифедипин, НСАИЛ, фенотијазините, фенитоин, тетрациклините и верапамил.

Во некои случаи интеракцијата може да се манифестира само со промена на ефектот на лекот, на пример, намален седативен ефект на барбитурати при хроничен алкохолизам (поради зголемен метаболизам на барбитуратите) или зголемена депресија на ЦНС во случај на истовремена администрација и на бензодиазепини, но последиците може да бидат и посериозни до зголемување на токсичноста на одредени лекови (на пример, циклоспорин) или предизвикување на несакани реакции (на пример, ортостатска хипотензија со фелодипин), хепатотоксичност (метотрексат), крварења (аспирин) или нарушена моторна координација (фенотијазини и фенилбутазон). Интеракции со важно токсиколошко значење се и оние помеѓу алкохолот и психијатриските лекови, посебно антидепресивите и антипсихотиците. Акутната или хроничната консумација на алкохол, кога се комбинира со психијатриски лекови, може да резултира со клинички значајни токсиколошки интеракции, вклучувајќи ги и тие што би довеле до фатално труење т.е. предозирање, поради намален метаболизам на лекот.

10. ЛИТЕРАТУРА

- Acree, B. (Ed) (2012). *Toxicity and drug testing*. IntechOpen, London, United Kingdom.
- Ahmed, S., Zhou, Z., Zhou, J., Chen, S-Q. (2016). Pharmacogenomics of Drug Metabolizing Enzymes and Transporters: Relevance to Precision Medicine. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 14(5): 298-313.
- Argikar, U.A. (2012). Unusual glucuronides. *Drug Metabolism and Disposition*. 40(7): 1239-1251.
- Bailey, D.G. (2004). Grapefruit juice-drug interactions issues. In: Boullata, J.I., Armenti, V.T. (Eds) *Handbook of Drug-Nutrient Interactions*. Humana Press, Totowa, New Jersey, pp. 175-194.
- Boddupalli, S., Mein, J.R., Lakkanna, S., James, D.R. (2012). Induction of phase 2 antioxidant enzymes by broccoli sulforaphane: perspectives in maintaining the antioxidant activity of vitamins A, C, and E. *Frontiers in Genetics*. vol. 3, article 7.
- Borst, P., Elferink, R.O. (2002). Mammalian ABC transporters in health and disease. *Annu Rev Biochem*. 71: 537–592.
- Borst, P., Evers, R., Kool, M., Wijnholds, J. (2000). A family of drug transporters: the multidrug resistance-associated proteins. *Journal of the National Cancer Institute*. 92(16): 1295-1302.
- Coleman, M.D. (Ed.) (2010). *Human Drug Metabolism An Introduction* (2 издание). John Wiley & Sons, Inc., Hobocen, New Jersey.
- Evans, G. (Ed). (2004). *A Handbook of Bioanalysis and Drug Metabolism*. CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, USA.
- Fleisher, D., Burgunda, S.W., Ameeta, P. (2004). Drug absorption with food. In: Boullata, J.I., Armenti, V.T. (Eds) *Handbook of Drug-Nutrient Interactions*. Humana Press, Totowa, New Jersey, pp. 129-154.
- Fretland, A.J., Omiecinski, C.J. (2000). Epoxide hydrolases: biochemistry and molecular biology. *Chemico-Biological Interactions*. 129: 41-59.
- Gardiner, S.J., Begg, E.J. (2006). Pharmacogenetics, drug-metabolizing enzymes, and clinical practice. *Pharmacol Rev*. 58: 521-590.
- Gonzalez, F., Tukey, R.H. (2006). Drug Metabolism. In Brunton, L.L., Lazo, J.S., Parker, K.L. (Eds.). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Pharmaceuticals* (11 издание). New York: McGraw-Hill; 71-92.
- Handschin, C., Meyer, U.A. (2003). Induction of drug metabolism: the role of nuclear receptors. *Pharmacol Rev*. 55: 649–673.
- Hediger, M.A. (Ed.) (2004). In *Special Issue: The ABCs of Solute Carriers: Physiological, Pathological and Therapeutic Implications of Human Membrane Transport Proteins*. Springer-Verlag, Berlin.

Hosokawa, M. (2008). Structure and catalytic properties of carboxylesterase isozymes involved in metabolic activation of prodrugs. *Molecules*. 13: 412-431.

Ionesco, C., Caira, M.R. (Eds) (2005). *Drug Metabolism Current Concepts*. Springer, Netherlands.

Klaassen, C.D. (2008) *Casarett and Doull's Toxicology, The Basic Science of Poisons* (7-мо издание). The McGraw-Hill Companies, Inc., USA.

Klein, I., Sarkadi, B., Varadi, A. (1999). An inventory of the human ABC proteins. *Biochem Biophys Acta*. 1461(2): 237-262.

Kodama, S., Koike, C., Negishi, M., Yamamoto, Y. (2004). Nuclear receptors CAR and PXR cross talk with FOXO1 to regulate genes that encode drugmetabolizing and gluconeogenic enzymes. *Mol Cell Biol*. 24: 7931–7940.

Krueger, S.K., Williams, D.E. (2005). Mammalian flavin-containing monooxygenases: structure/function, genetic polymorphisms and role in metabolism. *Pharmacol Ther*. 106(3): 357-387.

Leabman, M.K., Huang, C.C., DeYoung, J., *et al.* (2003). Natural variation in human membrane transporter genes reveals evolutionary and functional constraints. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100: 5896–5901.

Leslie, E., Deeley, R., Cole, S. (2005). Multidrug resistance proteins: role of P-glycoprotein, MRP1, MRP2 and BCRP (ABCG2) in tissue defense. *Toxicol Appl Pharmacol*. 204: 216–237.

Marzolini, C., Paus, E., Buclin, T., Kim, R. B. (2004). Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): recent advances and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther*. 75(1): 13-33.

Mizuno, N., Niwa, T., Yotsumoto, Y., Sugiyama, Y. (2003). Impact of drug transporter studies on drug discovery and development. *Pharmacol Rev*. 55: 425–461.

Minchun, J., Xiaofang, G., Minde, Y. (2003). Drug interaction between nonsteroid antiinflammatory drugs and angiotensin converting enzyme inhibitors. *Zhongguo Linchuang Yaolixue Zazhi* 19:310-314.

Mozayani, A., Raymon, L.P. (Eds) (2004). *Handbook of Drug interactions – A clinical and forensic guide*. Humana Press, Inc., Totowa, New Jersey.

Negishi, M., Pedersen, L.G., Petrotchenko, E., Shevtsov, S., Gorokhov, A., Kakuta, Y., Pedersen, L.C. (2001). Structure and function of sulfotransferases. *Arch Biochem Biophys*. 390(2): 149–157.

Paxton, J. (Ed) (2012). *Topics on drug metabolism*. IntechOpen, London, United Kingdom.
Sanoudou, D. (Ed) (2012). *Clinical applications of pharmacogenetics*. InTech, Croatia.

Thomas, J. (1994). Drug interactions. In: Thomas J, (Ed.). *Australian Prescriptions Product Guide*, (издание 23). Melbourne: Australian Pharmaceutical Publishing Co., p. 62.

Uetrecht, J.P., Trager, W. (2007). *Drug Metabolism – Chemical and Enzymatic Aspects*. Informa Healthcare USA, Inc.

Vesell, E.S. (2000). Advances in pharmacogenetics and pharmacogenomics. *J Clin Pharmacol.* 40: 930–938.

Xie, F., Ding, X., Zhang, Q-Y. (2016). An update on the role of intestinal cytochrome P450 enzymes in drug disposition. *Acta Pharm Sinica B.* 6(5): 374-383.

Zanger, U.M., Schwab, M. (2013). Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacology & Therapeutics*, 138(1): 103-141.

ISBN 978-608-244-557-1